

Universidade Federal do Paraná  
Setor de Tecnologia



Programa de Pós-Graduação em Métodos Numéricos

METODOLOGIA PARA A SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL  
DO COMPORTAMENTO MECÂNICO DE ESTRUTURAS  
TRABECULARES ÓSSEAS ESPECÍFICAS

Marco André Argenta

Curitiba, 2011

Marco André Argenta

METODOLOGIA PARA A SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL  
DO COMPORTAMENTO MECÂNICO DE ESTRUTURAS  
TRABECULARES ÓSSEAS ESPECÍFICAS

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Métodos Numéricos em Engenharia – PPGMNE, Setor de tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito para obtenção do título de Doutor em Métodos Numéricos em Engenharia, área de concentração em Mecânica Computacional.

Orientadora: Profa. Dra. Mildred Ballin Hecke

Curitiba, 2011

“Todas as verdades são simples de entender uma vez descobertas;

O ponto é descobri-las”.

*Galileu Galilei*

# AGRADECIMENTOS

Ao LAMIR – Laboratório de minerais e rochas, nas pessoas do Prof. Dr. José Manoel dos Reis Neto e Clarice Marchese pela disponibilidade do uso do equipamento de microtomografia e ajuda com pesquisas sobre o assunto.

A Dr. Ana Paula Gebert pelo apoio incondicional, pela pronta disponibilidade, pela ajuda com os procedimentos experimentais, tanto na parte de execução quanto na parte burocrática de empréstimo de equipamentos e laboratórios e pelos contatos.

Ao Hospital Vita e ao Dr. Edmar Stieven Filho pela parceria no projeto de pesquisa de investigação do comportamento do tecido ósseo trabecular, pela ajuda com o projeto submetido ao conselho de ética para aprovação da pesquisa com seres humanos e fornecimento das amostras de tecido ósseo trabecular humano frescas.

Ao LABNANO - Laboratório de Propriedades Nanomecânicas de Superfícies e Filmes Finos, na pessoa do Dr. Carlos Mauricio Lepiensi pelo empréstimo dos equipamentos para o corte e limpeza das amostras.

Aos Professores Profa. Dra. Marianne R.M.N. Costa e Prof. Dr. Marcelo H. F. Medeiros, pela disponibilização do laboratório e da prensa de ensaios de compressão EMIC para a execução dos ensaios físicos e ao aluno Alécio Mattana pelo auxílio na execução dos ensaios.

A Profa. Mildred Ballin Hecke pela insistência e por fim em me convencer a mudar de área e enfrentar o desafio de estudar biomecânica.

Aos Professores Eduardo Dell'Avanzi e Roberto Dalledone Machado pelas conversas e esclarecimentos diversos sobre engenharia, pesquisa, estruturas e bioengenharia.

Aos meus alunos Vanderson Deon e Bruna Felizari pela ajuda com os procedimentos experimentais, reconstrução das trabéculas em modelos tridimensionais e execução do processo de criação das malhas de elementos finitos.

Aos amigos Diego Mascarenhas Oliva e Juliano J. Scremin pela ajuda com o desenvolvimento do código em python para a geração do algoritmo aplicado neste trabalho para simulação computacional.

A Maristela Bandil pelo ótimo bom humor e pelo cafezinho clássico de todas as tardes e todos os amigos que de alguma maneira, direta ou indireta, ajudaram no desenvolvimento desse trabalho.

A CAPES pelo apoio financeiro através da bolsa de doutorado.

E por fim, ao meu pai Jeime João Argenta, minha mãe Elair Laurinda Argenta e minha irmã Angela Mara Argenta, por, mais uma vez, acreditarem em mim nessa nova empreitada que teve como início este trabalho de doutorado.

## LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descrição	Ocorrência
$h$	Altura das amostras (13 mm)	pág. 58
$A$	Área de aplicação de forças na superfície superior das amostras	pág. 58
$\mu_{ar}$	Coeficiente de atenuação linear ar	pág. 18
$\mu_{\acute{a}gua}$	Coeficiente de atenuação linear da água	pág. 18
$\mu_{pixel}$	Coeficiente de atenuação linear mensurado pelo detector para o respectivo pixel	pág. 18
$\mu$	Coeficiente de atenuação linear total do material	pág. 16
$N_{ij}(\bar{\zeta})$	Cofatores do tensor $K_{ik}(\bar{\zeta})$ (notação indicial)	pág. 24
$a_1$	Comprimento do elipsoide em relação ao eixo 1	pág. 24
$a_2$	Comprimento do elipsoide em relação ao eixo 2	pág. 24
$a_3$	Comprimento do elipsoide em relação ao eixo 3	pág. 24
$a_i$	Comprimento do elipsoide em relação ao eixo $i$	pág. 24
$\bar{\zeta}$	Coordenada genérica de posição dentro da esfera unitária	págs. 23, 24
$\bar{\zeta}_{3p}$	Coordenadas dos pontos de Gauss em relação ao eixo $\bar{\zeta}_3$	pág. 25
$\theta_q$	Coordenadas dos pontos de Gauss em relação às variações angulares	pág. 25
$\varepsilon_i$	Deformação em uma inclusão $i$	pág. 22
$\varepsilon_i^t$	Deformações em todas as inclusões $i$ do compósito	pág. 22
$\varepsilon_M$	Deformações médias na matriz	págs. 22, 23
$D(\bar{\zeta})$	Determinante do tensor $K_{ik}(\bar{\zeta})$	pág. 24
$\bar{\zeta}_1$	Eixo 1 da esfera unitária	pág. 24
$\zeta_1$	Eixo 1 do elipsoide parametrizado	pág. 24
$\bar{\zeta}_2$	Eixo 2 da esfera unitária	pág. 24
$\zeta_2$	Eixo 2 do elipsoide parametrizado	pág. 24
$\zeta_3$	Eixo 3 do elipsoide parametrizado	pág. 24
$\bar{\zeta}_3$	Eixo de integração da esfera unitária	págs. 23, 24
$\bar{\zeta}_i$	Eixo $i$ da esfera unitária	pág. 24
$\zeta_i$	Eixo $i$ do elipsoide parametrizado	pág. 24
$b$	Espessura do material	pág. 16
$f_M$	Fração volumétrica da matriz	págs. 22, 23
$f_a$	Fração volumétrica da matriz de água	págs. 37, 44
$f_c$	Fração volumétrica da matriz de fibras de colágeno	págs. 37, 38, 44
$f_{next}$	Fração volumétrica da matriz de hidroxiapatita extrafibrilar úmida	págs. 40, 44
$f_{hap}^i$	Fração volumétrica da matriz de hidroxiapatita interfibrilar	págs. 39, 44
$f_{ml}$	Fração volumétrica da matriz de matriz lamelar	pág. 41
$f_{fib}$	Fração volumétrica das inclusões de fibras de colágeno mineralizadas	págs. 40, 44
$f_{col}$	Fração volumétrica das inclusões de fibras de colágeno úmidas entre hidroxiapatita interfibrilar	págs. 39, 44
$f_{lac}$	Fração volumétrica das inclusões de lacunas	pág. 41
$f_{aq}^f$	Fração volumétrica das inclusões de meio aquoso entre fibras de colágeno	págs. 37, 44

$f_{pnc}$	Fração volumétrica das inclusões de proteínas não colagenosas na matriz de água	págs. 37, 44
$f_i$	Fração volumétrica das inclusões tipo $i$	págs. 22, 23, 25
$f_j$	Fração volumétrica das inclusões tipo $j$	pág. 22
$f_{aq}^e$	Fração volumétrica do meio aquoso entre hidroxiapatita extrafibrilar	págs. 39, 44
$f_{vox}^i$	Fração volumétrica do voxel $i$	pág. 45
$I_{FD}$	Inclinação da linha de tendência dos gráficos de força por deslocamento	pág. 58
$I_0$	Intensidade da radiação de raios X incidente	pág. 16
$I$	Intensidade da radiação de raios X que emerge do material	pág. 16
$E$	Módulo de elasticidade calculado	pág. 58
$\mathcal{H}$	Número de Hounsfield	pág. 18
$n_p$	Número de pontos de Gauss na direção $\bar{\zeta}_3$	pág. 25
$n_q$	Número de pontos de Gauss na direção angular $\theta$	pág. 25
$N$	Número total de cada tipo de inclusão	págs. 22, 25
$n_{ve}$	Número total de voxels dentro de um elemento	pág. 45
$W_p$	Pesos dos pontos de Gauss na direção $\bar{\zeta}_3$	pág. 25
$W_q$	Pesos dos pontos de Gauss na direção angular $\theta$	pág. 25
$\sigma_M$	Tensões médias na matriz	pág. 22
$C_{vox}^i$	Tensor constitutivo do voxel $i$	pág. 45
$G_{ijkl}(\theta_q, \bar{\zeta}_{3p})$	Tensor das funções de Green avaliado nos pontos de Gauss (notação indicial)	pág. 25
$\mathbf{E}$	Tensor de Eshelby	págs. 22, 38, 39
$E_{ijkl}$	Tensor de Eshelby (notação indicial)	págs. 23, 25
$\mathbf{E}_c^{hext}$	Tensor de Eshelby para inclusões cilíndricas em uma matriz de hidroxiapatita extrafibrilar úmida	pág. 41
$\mathbf{E}^c$	Tensor de Eshelby para inclusões elipsoidais em uma matriz de fibras de colágeno	págs. 37, 38
$\mathbf{E}^{hap}$	Tensor de Eshelby para inclusões elipsoidais em uma matriz de hidroxiapatita interfibrilar	pág. 39
$\mathbf{E}^{lam}$	Tensor de Eshelby para inclusões elipsoidais em uma matriz de matriz lamelar	pág. 42
$\mathbf{E}_e^a$	Tensor de Eshelby para inclusões esféricas em uma matriz de água	pág. 37
$\mathbf{E}_e^{hap}$	Tensor de Eshelby para inclusões esféricas em uma matriz de hidroxiapatita extrafibrilar	pág. 40
$G_{ijkl}(\bar{\zeta})$	Tensor de funções de Green (notação indicial)	págs. 23, 24
$\mathbf{I}$	Tensor de identidade de quarta ordem	págs. 22, 23, 37, 38, 39, 40, 41, 42
$\mathcal{A}_i^t$	Tensor de influência de todas as inclusões $i$ do compósito	págs. 22, 23
$\mathcal{A}_{fib}$	Tensor de influência de uma inclusão de fibras de colágeno mineralizadas	págs. 40, 44
$\mathcal{A}_{col}$	Tensor de influência de uma inclusão de fibras de colágeno úmidas	pág. 39
$\mathcal{A}_{lac}$	Tensor de influência de uma inclusão de lacunas	págs. 41, 42
$\mathcal{A}_{aq}^e$	Tensor de influência de uma inclusão de meio	pág. 39

$\mathcal{A}_{aq}$	aquoso na matriz de hidroxiapatita extrafibrilar Tensor de influência de uma inclusão de meio aquoso na matriz de fibras de colágeno	págs. 37, 38
$\mathcal{A}_{pnc}$	Tensor de influência de uma inclusão de proteínas não colagenosas	pág. 37
$\mathcal{A}_i$	Tensor de influência para uma única inclusão $i$	págs. 22, 23
$\mathcal{A}_j$	Tensor de influência para uma única inclusão $j$	pág. 22
$\mathcal{C}_{hext}$	Tensor de rigidez da hidroxiapatita extrafibrilar úmida	págs. 39, 40, 41
$\mathcal{C}_i$	Tensor de rigidez da inclusão	págs. 22, 23, 25
$\mathcal{C}_M$	Tensor de rigidez da matriz	págs. 22, 23
$\mathcal{C}_{Mijkl}$	Tensor de rigidez da matriz do compósito (notação indicial)	págs. 23, 25
$\mathcal{C}_{ml}$	Tensor de rigidez da matriz lamelar	págs. 40, 41, 42
$\mathcal{C}_{fib}$	Tensor de rigidez das fibras de colágeno mineralizadas	págs. 39, 40, 41
$\mathcal{C}_{col}$	Tensor de rigidez das fibras de colágeno úmidas	págs. 37, 39
$\mathcal{C}_{elem}$	Tensor de rigidez de um elemento	pág. 42
$\mathcal{C}_{lac}$	Tensor de rigidez de uma lacuna, idêntico ao do meio aquoso $\mathcal{C}_{aq}$	págs. 41, 42
$\mathcal{C}_{lam}$	Tensor de rigidez de uma lamela simples	pág. 41
$\mathcal{C}$	Tensor de rigidez efetivo de um compósito sem uma matriz definida	pág. 25
$\mathcal{C}_{ef}$	Tensor de rigidez efetivo do compósito	pág. 23
$\mathcal{C}_a$	Tensor de rigidez isotrópico da água	págs. 14, 37, 38
$\mathcal{C}_{pnc}$	Tensor de rigidez isotrópico das proteínas não colagenosas	págs. 14, 37
$\mathcal{C}_{aq}$	Tensor de rigidez para o meio aquoso	págs. 37, 38, 39, 40
$\mathcal{C}_{hap}$	Tensor de rigidez transversalmente isotrópico da hidroxiapatita	págs. 13, 39, 40
$\mathcal{C}_c$	Tensor de rigidez transversalmente isotrópico do colágeno	págs. 14, 37
$K_{ik}(\bar{\zeta})$	Tensor representativo do lado esquerdo da relação entre deslocamentos e a perturbação no campo de deformações	pág. 24
$\theta$	Varição angular	págs. 23, 24

## RESUMO

**Resumo:** A engenharia estrutural tem evoluído nos últimos anos, estendendo a aplicação de seus conceitos para diversas áreas do conhecimento. Uma das mais complexas é a análise de estruturas biológicas, como o tecido ósseo trabecular. Essa complexidade é justificada por uma série de incertezas e variações que ocorrem nas propriedades mecânicas destas estruturas, e dificuldades na sua obtenção. Na literatura são encontrados trabalhos que propõem formas de caracterizar o tecido ósseo, buscando o conhecimento de suas propriedades. Alguns desses trabalhos apresentam equações aproximadas para o cálculo da rigidez em função da densidade óssea (densidade aparente, densidade de cinzas, etc.), ou definem um módulo de elasticidade equivalente, obtido por uma reta estatisticamente ajustada a uma nuvem de pontos que representam testes de compressão mecânica de espécimes diferentes. Outras, mais recentes, consideram o osso como um material compósito disposto em diversas escalas ou níveis, e usam as propriedades de seus constituintes elementares para descobrir o comportamento mecânico em cada escala ou nível, utilizando técnicas de multiescala e homogeneização. O tecido ósseo, de fato, é um material que tem comportamentos relacionados com a escala de observação devido à sua complexa estrutura hierárquica compósita, que é responsável pela atribuição de boas propriedades mecânicas para toda a estrutura óssea. Portanto, suas características, composição e propriedades mecânicas dependem da escala em que este material é avaliado. Este trabalho apresenta uma metodologia para a simulação mecânica de amostras de osso trabecular específicas de um indivíduo, usando métodos de multiescala e homogeneização. A avaliação das propriedades mecânicas em cada nível começa a partir das propriedades mecânicas dos constituintes elementares do tecido ósseo, a hidroxiapatita, colágeno tipo I e água com proteínas não colagenosas existente na nanoescala, gerando compósitos bifásicos até chegar a microescala. A concentração do compósito em microescala é dada por uma correlação entre o valor de cinza de cada voxel, obtido a partir de fatias tomográficas transversais, e uma estimativa da variação da fração volumétrica de cada fase do compósito, com base em valores mínimos e máximos da literatura. O objetivo é a simulação computacional, utilizando o método de elementos finitos, de ensaios de compressão de amostras frescas de osso trabecular extraídos da tíbia humana. As amostras são removidas por uma broca trefina durante os procedimentos cirúrgicos no joelho. Os parâmetros de material utilizados na simulação são as relações constitutivas para uma lamela simples, que é o compósito existente na microescala, obtidas a partir das propriedades mecânicas dos constituintes elementares, através do método de homogeneização de Mori-Tanaka. O modelo tridimensional computacional geométrico da amostra de osso é construído usando fatias transversais tomográficas, geradas a partir da aquisição de imagens radiográficas, obtidas por microtomografia, com tamanho voxel final de 5,25 micrômetros cúbicos, sendo que cada voxel representará uma lamela simples. Este modelo é discretizado em elementos finitos tetraédricos quadráticos para a simulação. As características mecânicas dos constituintes elementares são obtidas através da literatura. Este estudo foca-se no osso trabecular obtido tíbia humana e os resultados de sua caracterização são válidos apenas para que o osso estudado, função do instante em que suas propriedades de regeneração e reabsorção cessaram. No entanto, a metodologia pode ser usada em qualquer osso com as características do osso trabecular, inclusive *in vivo*.

**Palavras-chave:** Microtomografia, Osso trabecular, Propriedades dos materiais, Biomecânica, Simulação computacional, Elementos Finitos.

## ABSTRACT

**Abstract:** The structural engineering has evolved in recent years by extending the application of its concepts to diverse areas of knowledge. One of the most complexes is the analysis of biological structures such as the trabecular bone tissue. This complexity is justified by a number of uncertainties and variations that occur in the mechanical properties of these structures, and difficulties in obtaining them. In the literature are found works that propose ways to characterize the bone tissue, seeking knowledge of their properties. Some of these works present approximate equations to calculate the stiffness as a function of the bone densities (apparent density, ash density, etc.), or define an equivalent modulus of elasticity, obtained by a straight line statistically adjusted to a cloud of points representing mechanical compression testing of various specimens. Other, more recent, consider bone as a composite material arranged in various scales, using properties of their elementary constituents to figure out the mechanical behavior in each scale or level, using multiscale and homogenization techniques. Bone tissue, in fact, is a material which has behaviors related to observation scale, because of its complex composite hierarchical structure, which is responsible for assigning good mechanical properties to whole bone structure. Therefore, their characteristics, composition and mechanical properties depend on the level at which this material is evaluated. This work presents a methodology for the mechanical simulation of trabecular bone specific samples of an individue using multiscale and homogenization methods. The evaluation of mechanical properties in each level starts from the mechanical properties of the elementary constituents of bone tissue, hydroxyapatite, type I collagen and non-collagenous proteins with water, existing in the nanoscale, generating biphasic composites at each level until reach the microscale. The concentration of the microscale composite is given by a correlation between the gray value of each voxel, obtained from transverse tomographic slices, and an estimative of the variation of volume fraction of each phase of the composite, based on minimum and maximum values from the literature. The objective is the computer simulation, using the finite element method, of compression tests of fresh samples of trabecular bone extracted from human tibia. A trephine drill removes these samples during surgical procedures on the knee. The material parameters used in the simulation are the constitutive relations for a single lamella, the composite in microscale, obtained from the mechanical properties of elementary constituents, through the homogenization method of Mori-Tanaka. The three-dimensional computational geometric model of bone sample is constructed using transverse tomographic slices, generated from the acquisition of X-ray images obtained by microtomography, with final voxel size of 5.25 cubic micrometers and each voxel will represent a single lamella. This model is discretized into quadratic tetrahedral finite elements for simulation. Each voxel or lamellae have different mechanical property in accordance with the concentration of elemental constituents. The mechanical characteristics of elementary constituents are obtained through literature. This study focuses on the trabecular bone obtained from human tibia and the results of its characterization are only valid for that bone studied, function of the instant in which its properties of regeneration and resorption stopped. However, the methodology can be used in any bone with the characteristics of trabecular bone, including *in vivo*.

**Keywords:** Microtomography, Trabecular bone, Materials Properties, Finite Elements, Biomechanics, Computational Simulation.

# SUMÁRIO

Resumo.....	iv
Abstract.....	v
1. Introdução.....	1
2. Objetivos .....	4
2.1. Objetivos Gerais.....	5
2.2. Objetivos Específicos .....	5
3. Revisão da Literatura.....	7
3.1. O Tecido Ósseo Trabecular.....	7
3.2. Constituintes Elementares do Tecido Ósseo.....	12
3.2.1. Hidroxiapatita .....	12
3.2.2. Colágeno .....	13
3.2.3. Água com proteínas não colagenosas.....	14
3.3. Microtomografia.....	15
3.4. Ensaio Mecânicos.....	20
3.5. Homogeneização na Multiescala .....	20
3.5.1. Método de Mori-Tanaka .....	22
3.5.2. Aproximação de Voigt.....	25
4. Metodologia.....	26
4.1. Amostras de Osso Trabecular.....	26
4.2. Microtomografia.....	28
4.2.1. Aquisição e Reconstrução das Fatias 2D .....	28
4.2.2. Segmentação e Geração do modelo geométrico representativo tridimensional .....	30
4.2.3. Discretização em Elementos Finitos .....	33
4.3. Ensaio Mecânicos.....	34
4.4. Homogeneização em cada Nível Hierárquico.....	35
4.4.1. Nanoescala: Constituintes Elementares.....	36
4.4.2. Supernanoescala: Fibras de Colágeno Mineralizadas .....	38
4.4.3. Submicroescala: Fibras de Colágeno Mineralizadas envoltas por uma Matriz de Hidroxiapatita .....	40
4.4.4. Microescala: Lamelas .....	41
4.4.5. Frações Volumétricas .....	42
4.4.6. Direções Principais.....	45

4.4.7. Tensor de Rigidez Anisotrópico de cada Elemento .....	47
4.5. Simulação Computacional .....	48
5. Procedimentos e Resultados .....	52
5.1. Ensaios mecânicos das amostras de tecido ósseo trabecular.....	53
5.2. Modelo de elementos finitos .....	55
5.3. Comparações entre elementos finitos e ensaios mecânicos .....	60
6. Discussão .....	63
7. Conclusões.....	67
8. Sugestões para trabalhos futuros.....	68
Referências Bibliográficas .....	69

# 1. INTRODUÇÃO

A engenharia de estruturas tem evoluído nos últimos anos estendendo a aplicação dos seus conceitos às mais diversas áreas do conhecimento. Uma das aplicações mais complexas é a análise de estruturas biológicas, como por exemplo, o tecido ósseo trabecular. Essa complexidade se justifica pelas diversas incertezas e variações que ocorrem nas propriedades mecânicas do material de tais estruturas, e das dificuldades em se obtê-las (CURREY, 2004).

Simulações computacionais das estruturas ósseas podem ajudar em diagnósticos médicos mais precisos e satisfatórios (HAGE, ABOULAFIA *et al.*, 2000). No entanto, para que isso seja possível, o material, seu crescimento, sua composição, seu comportamento, devem ser completamente entendidos.

Esse domínio do conhecimento do seu comportamento é extremamente complexo de ser obtido, no entanto, podem-se selecionar algumas das diversas variáveis que compõe a vida dessas estruturas e analisá-las separadamente.

O presente trabalho trata disto: uma busca de como simular o comportamento mecânico de uma amostra de osso trabecular específica, para determinado indivíduo, com certas características, função do instante em que suas propriedades de regeneração e reabsorção cessaram, baseando-se em propriedades obtidas a partir de imagens de microtomografia.

A técnica da tomografia computadorizada foi escolhida por ser não invasiva e apresentar a capacidade de descrever a geometria interior de estruturas (FILLER, 2009), assim como quantificar certas propriedades, como sua densidade e até sua constituição química (RHO, HOBATHO *et al.*, 1995), podendo ser aplicada *in vivo*.

Na literatura, dentro da área da biomecânica e bioengenharia, é possível encontrar trabalhos propondo formas de se caracterizar o tecido ósseo, buscando principalmente o conhecimento de suas propriedades mecânicas. Alguns métodos da literatura apresentam, de uma forma aproximada, equações para o cálculo da rigidez em função de densidades do tecido ósseo (HELGASON, PERILLI *et al.*, 2008), como densidade aparente, densidade de cinzas, entre outras. Outros apresentam o valor de um módulo de elasticidade equivalente, obtido com ajustes estatísticos de curvas decorrentes de ensaios mecânicos de compressão de diversos corpos de prova (CHEVALIER, PAHR *et al.*, 2007). Outros ainda, métodos mais recentes, tratam o tecido ósseo como um material de estrutura compósita e organizada em diversos níveis, buscando o conhecimento das propriedades dos seus constituintes elementares para escrever o comportamento mecânico em diversos níveis ou escalas, utilizando-se técnicas de homogeneização e multiescala (HAMED, LEE *et al.*, 2010). No entanto, na maioria dos trabalhos, esses métodos caracterizam certo material ósseo teórico, pois as propriedades e frações

volumétricas empregadas são baseadas em experimentos com amostras de tecido ósseo genérico o que, sabendo-se da variabilidade das propriedades do material com o tempo e de indivíduo para indivíduo, pode-se considerar seus valores apenas como de referência.

A possibilidade de se simular a estrutura interna de um osso, em escala micrométrica pode sugerir um avanço em técnicas cirúrgicas como, por exemplo, a artroscopia no joelho, que hoje é comumente feita para tratar a cartilagem do menisco lesionada, a construção da prótese total do joelho, reconstrução do ligamento cruzado anterior e tratamento de microfraturas da cartilagem, entre outras, sendo que em algumas é necessária a implantação de pinos ou parafusos para afixação (fonte: Procedimentos cirúrgicos no joelho, GRUPO VITA, Hospital VITA Curitiba, Rodovia BR 116, Km 396, nº 4021 Bairro Alto - Curitiba – PR), conforme ilustra a Figura 1.

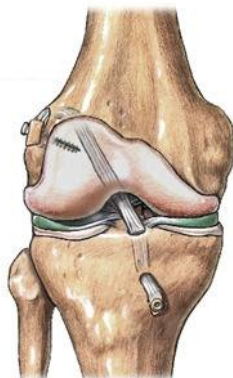


FIGURA 1 – ILUSTRAÇÃO DO LIGAMENTO CRUZADO ANTERIOR RECONSTRUÍDO (fonte: adam.com, Inc., [http://adam.sertaoggi.com.br/encyclopedia/presentations/100117\\_12690.htm](http://adam.sertaoggi.com.br/encyclopedia/presentations/100117_12690.htm)).

A identificação de características mecânicas do tecido ósseo de cada paciente pode ajudar, por exemplo, na escolha do melhor tipo de parafuso para cada caso específico, melhorando tanto o procedimento cirúrgico, quanto a morbidade pós-operatório (fonte: Entrevista com médicos ortopedistas set/2010, GRUPO VITA, Hospital VITA Curitiba, Rodovia BR 116, Km 396, nº 4021 Bairro Alto - Curitiba – PR).

Além disso, tentar caracterizar esse material, mesmo que de forma indireta com base em seus constituintes, entender a morfologia das trabéculas, seus parâmetros e propriedades e como essas se relacionam com parâmetros mecânicos, tudo isso, com a certa abordagem e correta metodologia, podem significar um avanço nos métodos para a simulação da estrutura do osso trabecular (FIELD e KENYON, 1989).

A metodologia para a obtenção de propriedades do tecido ósseo que possibilitem a caracterização mecânica de partes específicas do osso trabecular humano, é desenvolvida visando à possibilidade de ser aplicada *in vivo*.

Amostras de tecidos trabeculares ósseos humanos frescos, retiradas por uma broca trefina da tíbia durante procedimentos cirúrgicos do joelho (essas amostras são os descartes cirúrgicos), são limpas, submetidas à microtomografia e a testes mecânicos de compressão, sendo descartadas após os procedimentos, embaladas em material plástico tipo lixo hospitalar e devolvidas ao hospital de origem para destinação adequada.

O tecido ósseo é tratado como um material compósito com estrutura hierárquica específica (RHO, KUHN-SPEARING *et al.*, 1998). São definidos quatro níveis escalares distintos para a montagem do compósito representativo da estrutura de uma lamela, representante do nível micrométrico, a partir das moléculas dos constituintes elementares do tecido ósseo em nanoescala. São eles: nanoescala, supernanoescala, submicroescala e microescala. A cada nível a estrutura existente é tratada como um compósito de duas fases, sendo uma a matriz e outra as inclusões. O formato das inclusões é aproximado a formatos matematicamente conhecidos para possibilitar a aplicação dos conceitos de teorias de homogeneização (SANSALONE, LEMAIRE *et al.*, 2007).

A especificidade das propriedades mecânicas de cada lamela do osso trabecular é obtida através das frações volumétricas das estruturas existentes em nível lamelar, calculadas por uma correlação do nível de cinza da fatia tomográfica transversal com volume relativo de cada constituinte da lamela.

São utilizados, neste trabalho, duas teorias de homogeneização: o método de Mori-Tanaka (KLUSEMANN e SVENDSEN, 2010), utilizado a cada nível hierárquico para a obtenção das propriedades mecânicas efetivas do compósito e a aproximação de Voigt (MURA, 1993), utilizado na homogeneização final das propriedades dos voxels para um elemento.

Um aplicativo escrito em python calcula: frações volumétricas dos constituintes lamelares a partir das fatias tomográficas transversais; propriedades mecânicas efetivas de cada nível hierárquico definido e aplica essas propriedades a cada elemento da malha de elementos finitos obtidas com a discretização da amostra de osso trabecular; executa uma simulação computacional do ensaio mecânico físico de compressão através de elementos finitos (ZIENKIEWICZ e TAYLOR, 2005).

As comparações entre os resultados físicos e os computacionais validam a metodologia proposta.

## 2.OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é propor uma metodologia para a simulação computacional mecânica de estruturas trabeculares ósseas, utilizando-se relações constitutivas para cada microvolume representativo determinado, obtidas das propriedades mecânicas dos constituintes elementares, através do método de homogeneização de Mori-Tanaka e da aproximação de Voigt. A simulação preverá tensões e deformações nessas estruturas trabeculares ósseas específicas de certo ser humano, sendo que tais previsões podem auxiliar na tomada de decisões sobre procedimentos cirúrgicos diversos aplicados a essas estruturas.

Os resultados obtidos na modelagem e simulação computacional de um ensaio de compressão são comparados com os resultados de um ensaio físico de compressão executado utilizando-se uma Máquina Universal de Ensaio DL 10.000, EMIC (EMIC – Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda.) para validação do método.

As amostras analisadas e utilizadas nos ensaios foram extraídas de tíbias humanas, retiradas com o uso de uma broca trefina durante procedimentos cirúrgicos no joelho, executados no Hospital Vita (GRUPO VITA, Hospital VITA Curitiba, Rodovia BR 116, Km 396, nº 4021 Bairro Alto - Curitiba – PR).

As propriedades de cada elemento básico constituinte do tecido ósseo são retiradas da literatura (KATZ e UKRAINCİK, 1971; CUSACK e MILLER, 1979; HAMED, LEE *et al.*, 2010). A quantificação de cada elemento constituinte do tecido ósseo é feita através de uma correlação do valor de cinza obtido de fatias tomográficas transversais, geradas a partir da aquisição de imagens de raios X, obtidas com um microtomógrafo de alta resolução, e os máximos e mínimos valores de concentrações para cada constituinte (HAMED, LEE *et al.*, 2010).

A obtenção do modelo geométrico tridimensional é feita através da submissão das amostras de osso trabecular à microtomografia, resultando em imagens computacionais de alta resolução representativas de seções transversais da amostra, chamadas de fatias tomográficas (FILLER, 2009). A cada pixel de uma imagem digital representativa de uma fatia tomográfica transversal é obtido o valor de cinza (RUSS, 2007), para posterior correlação. Esses pixels são transformados em voxels quando a fatia é extrudada da dimensão do lado do pixel, para a formação do modelo tridimensional básico (o qual é refinado e discretizado em elementos finitos).

As mesmas amostras de osso, após a aquisição tomográfica, são submetidas a ensaios mecânicos de compressão, objetivando a obtenção da curva força por deslocamento do regime elástico.

O método de Mori-Tanaka é utilizado para calcular as relações constitutivas que são utilizadas em cada elemento do modelo computacional, em microescala, de

acordo com as propriedades obtidas para cada voxel, baseando-se nos constituintes elementares do tecido ósseo em nanoescala.

Uma simulação computacional que represente o ensaio mecânico das amostras de osso é feita utilizando-se um aplicativo escrito em linguagem python (PYTHON, 2011). Esse aplicativo executa uma análise de elementos finitos para calcular os deslocamentos em um modelo tridimensional, em função de cargas estaticamente aplicadas e com o acoplamento dos deslocamentos dos nós da superfície superior (ZIENKIEWICZ e TAYLOR, 2005). As propriedades materiais são obtidas pelos parâmetros constitutivos levantados para cada volume representativo do tecido ósseo, função de sua fração volumétrica no indivíduo, homogeneizados para cada elemento.

Este estudo se foca no osso trabecular obtido da tíbia humana, sendo os resultados de sua caracterização apenas válidos para o osso estudado, função do instante em que suas propriedades de regeneração e reabsorção cessaram. No entanto, a metodologia apresentada pode ser utilizada em qualquer osso trabecular bovino, ovino, murídeo, humano, ou seja, qualquer osso com as características do osso trabecular.

## 2.1. OBJETIVOS GERAIS

Propor uma metodologia para a simulação mecânica computacional de estruturas trabeculares ósseas humanas, utilizando-se propriedades específicas de cada amostra baseadas em correlações das quantidades dos seus constituintes obtidas com o nível de cinza das fatias tomográficas transversais.

## 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtenção dos parâmetros mecânicos dos constituintes elementares do tecido ósseo: a hidroxiapatita, o colágeno do tipo I e um meio aquoso constituído de água com proteínas não colagenosas, através de trabalhos publicados na literatura que avaliem essas propriedades de acordo com ensaios mecânicos;
- Formulação matemática de equações de homogeneização, de acordo com o método de Mori-Tanaka, para a homogeneização das propriedades mecânicas para cada nível hierárquico do tecido ósseo, do nanométrico (constituintes elementares) ao micrométrico (escala do modelo computacional), considerando-se a cada nível o material compósito com duas fases distintas, uma matriz e uma inclusão. A forma das inclusões é determinada por uma aproximação do seu formato real em uma forma matematicamente conhecida. É mostrado mais adiante que, de acordo com a estrutura compósita do tecido ósseo trabecular, existem basicamente mais dois níveis entre os níveis nanométrico e micrométrico, portanto são necessários basicamente quatro passos de homogeneização das propriedades mecânicas;

- Levantamento literário das frações volumétricas máximas e mínimas de cada constituinte elementar no nível micrométrico e dos constituintes dos compósitos que se formam cada nível;
- Obtenção das fatias tomográficas transversais a partir de microtomografias de alta resolução das amostras de osso trabecular, objetivando um tamanho de pixel das imagens entre 1 e 10  $\mu\text{m}$ , referentes ao tamanho aproximado das lamelas do osso;
- Execução de um ensaio mecânico de compressão nas amostras de osso trabecular para a obtenção da curva de força por deslocamento de cada amostra;
- Construção de um modelo geométrico tridimensional através do processo de construção de sólidos a partir de imagens tomográficas (fatias tomográficas transversais) baseando-se na segmentação das partes, no caso osso e não osso, e na extrusão dos pixels da imagem digital da espessura do lado do próprio pixel, seguida de um processo de suavização das superfícies, para evitar a aparência “voxelada”, executado com parâmetros específicos para não modificar as características geométricas originais da amostra;
- Discretização do modelo geométrico em elementos finitos isoparamétricos tetraédricos quadráticos para a simulação computacional;
- Simulação computacional do ensaio mecânico de compressão, utilizando-se o modelo discretizado em elementos finitos e um aplicativo escrito em linguagem python para calcular os deslocamentos em um modelo tridimensional de elementos tetraédricos quadráticos. É aplicado um carregamento estaticamente aplicado e os deslocamentos dos nós da superfície superior são acoplados. As propriedades materiais são obtidas pelos parâmetros constitutivos levantados para cada volume representativo do tecido ósseo, homogeneizados em cada elemento;
- Comparação dos resultados do ensaio mecânico e da simulação computacional objetivando a validação da metodologia.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

A revisão bibliográfica é constituída do conhecimento do tecido ósseo trabecular e seus constituintes elementares, da técnica de microtomografia, das padronizações de ensaios mecânicos, assim como da descrição dos métodos utilizados na homogeneização dos compósitos da estrutura hierárquica do tecido ósseo.

#### 3.1. O TECIDO ÓSSEO TRABECULAR

O osso é uma forma altamente especializada de tecido conjuntivo com a função de suporte dos seres vertebrados superiores. É um tecido vivo complexo no qual a matriz extracelular é mineralizada conferindo rigidez e força ao esqueleto, mas mantendo certo grau de elasticidade. Sua composição pode ser separada em uma matriz orgânica, composta quase que totalmente por colágeno, e uma matriz inorgânica, formada basicamente de cálcio e fósforo na forma de hidroxiapatita. As porcentagens aproximadas em peso seco para os componentes de ossos bovinos e humanos são mostradas na Tabela 1 (PETERSON e BRONZINO, 2008).

Espécie	Água	% de peso seco		
		Hidroxiapatita	Colágeno	Outros
Bovino	9,1	76,4	21,5	2,1
Humano	7,3	67,2	21,2	11,6

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DE OSSOS CORTICAIS HUMANOS E BOVINOS ADULTOS (PETERSON E BRONZINO, 2008).

Esses valores devem ser vistos como de referência, pois devido ao comportamento do tecido ósseo, função dos hábitos e anatomia do ser, eles variam de amostra para amostra (COMPSTON, MELLISH *et al.*, 1989).

Morfologicamente, existem dois tipos de ossos: o cortical e o trabecular. O aspecto do osso cortical é de um material compacto e denso. No trabecular, encontram-se formas pouco organizadas com muitos poros, formando estruturas conhecidas como trabéculas. As diferenças entre osso cortical e trabecular estão relacionadas com suas principais funções: mecânicas e protetoras, e metabólicas, respectivamente (BILEZIKIAN, RAISZ *et al.*, 1996).

As trabéculas do osso trabecular são como lâminas ósseas irregularmente dispostas nos vários sentidos, deixando espaços livres entre si, ocupados pela medula óssea, que tem a função de elaborar as células sanguíneas. Observado ao microscópio, esse osso tem um aspecto semelhante ao de uma esponja (BILEZIKIAN, RAISZ *et al.*, 1996). Contudo, existem setores de alguns ossos, como acontece na cabeça do fêmur, em que as trabéculas adotam uma disposição específica, determinada pela força a que o osso se encontra submetido, o que

confere uma maior resistência a estrutura global do osso (CAULEY, BLACKWELL *et al.*, 2010). A Figura 2 ilustra a morfologia do osso trabecular.



FIGURA 2 – TRABÉCULAS (NEW YORK UNIVERSITY, Faculty Digital Archive, <http://hdl.handle.net/2451/23326>).

O osso é um material anisotrópico, heterogêneo, não linear, viscoelástico termodinamicamente complexo, com diferentes propriedades quando submetido à tração e a compressão. A complexidade de suas propriedades vem da irregularidade da sua estrutura (BEHARI, 2009).

Enquanto, na microescala, a estrutura do osso cortical possui canais de Volkmann, canais Harvesianos com lamelas concêntricas de fibras de colágeno ao seu redor, entre outras estruturas (RHO, KUHN-SPEARING *et al.*, 1998), o osso trabecular possui apenas a matriz óssea formada pelas lamelas e células especializadas como osteoblastos (formação óssea), osteoclastos (reabsorção óssea) e osteócitos, conforme ilustra a Figura 3. Ou seja, a maior complexidade em se analisar mecanicamente o osso trabecular é conhecer a sua geometria e a distribuição da rigidez na estrutura das trabéculas (MITTRA, RUBIN *et al.*, 2008).

Basicamente, o tecido ósseo é composto de fibras de colágeno tipo I (tropocolágeno) que interagem com moléculas de hidroxapatita em um meio aquoso com presença de proteínas não colagenosas (PNC), como ilustra a Figura 4, sendo esses os seus constituintes elementares (BILEZIKIAN, RAISZ *et al.*, 1996).

As propriedades mecânicas do osso são complicadas de serem obtidas (CURREY, 2004) pelos métodos tradicionais utilizando-se ensaios destrutivos em corpos de prova, primeiro pela sua complexa geometria e depois pela característica anisotrópica dessas propriedades (AUGAT, LINK *et al.*, 1998).

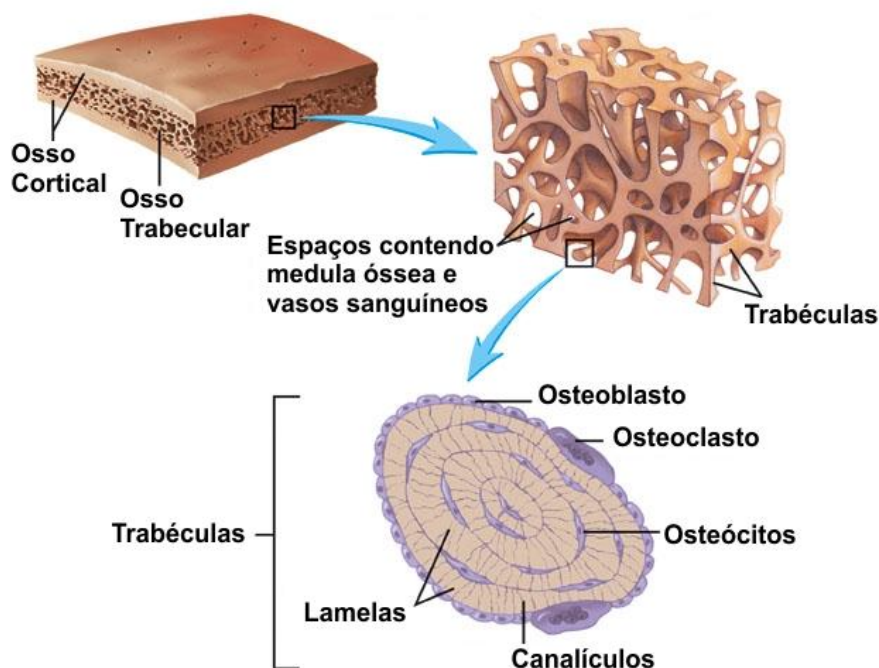


FIGURA 3 – ESTRUTURA DO OSSO TRABECULAR E DAS TRABÉCULAS (RUTGERS, The State University of New Jersey, Dr. Uzwiak's Courses, Skeletal Tissue, VI. Microscopic Structure Spongy Bone, <http://www.rci.rutgers.edu/~uzwiak/AnatPhys/APFallLect8.html>, traduzido).

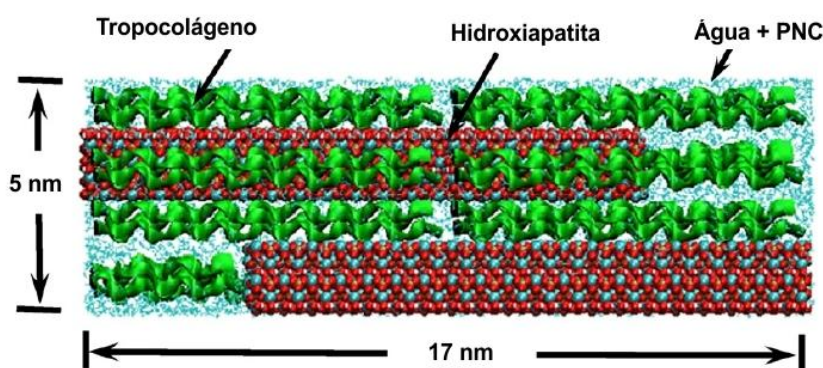


FIGURA 4 – ESTRUTURA MOLECULAR DO TECIDO ÓSSEO (DUBEY E TOMAR, 2010).

Alguns autores vêm apresentando valores de um módulo de elasticidade para o tecido ósseo humano (UCHIYAMA, TANIZAWA *et al.*, 1999; CUPPONE, SEEDHOM *et al.*, 2004; CHEVALIER, PAHR *et al.*, 2007), equino (LEAHY, SMITH *et al.*, 2010), suíno (TEO, SI-HOE *et al.*, 2006), murídeo (CORY, NAZARIAN *et al.*, 2010), em função de ensaios destrutivos em volumes de referência com quantidades de amostras estatisticamente relevantes e, alguns ainda, considerando várias direções nos ensaios (MITTRA, RUBIN *et al.*, 2005; OHMAN, BALEANI *et al.*, 2007). Essa metodologia fornece uma ideia das propriedades mecânicas das amostras, mas apenas das amostras utilizadas, servindo apenas para estimar de uma forma muito aproximada as propriedades em qualquer osso trabecular.

Outros autores já apresentam equações para o cálculo do módulo de elasticidade, em função da relação volume de osso e volume de tecido (GUO e KIM, 2002) e da densidade do tecido ósseo em certo volume de referência representativo (RHO, HOBATHO *et al.*, 1995; ZANNONI, MANTOVANI *et al.*, 1998; HELGASON, PERILLI *et al.*, 2008), com relações inclusive para módulos de elasticidade obtidos com tração e compressão (KANEKO, PEJCIC *et al.*, 2003). Algumas dessas equações para o tecido ósseo trabecular (de acordo com diferentes condições de teste e tamanhos de amostras) são mostradas na Tabela 2 (HELGASON, PERILLI *et al.*, 2008), para densidade aparente ( $\rho_{ap}$ , massa de tecido hidratado pelo volume total da amostra), densidade cinza ( $\rho_{cinzas}$ , massa de cinza resultante da queima em forno a 500° por 24 hs pelo volume total da amostra) e fração de volume ósseo (VO/VT, volume de tecido ósseo pelo volume total da amostra).

Local do osso	Medição Densiométrica	E [GPa]
Fêmur	$\rho_{cinzas}$	$E = 10,5\rho_{cinzas}^{2,29}$
Fêmur Distal	$\rho_{cinzas}$	$E = 10,88\rho_{cinzas}^{1,61}$
Vértebra	$\rho_{cinzas}$	$E = 1,89\rho_{cinzas}^{1,92}$
Pescoço do Fêmur	$\rho_{ap}$	$E = 6,85\rho_{ap}^{1,49}$
Tíbia proximal	$\rho_{ap}$	$E = 4,778\rho_{ap}^{1,99}$
Tíbia proximal	$\rho_{ap}$	$E = 15,52\rho_{ap}^{1,93}$
Vértebra	$\rho_{ap}$	$E = 2,3828\varepsilon^{0,07}\rho_{ap}^{1,88}$
Vértebra	$\rho_{ap}$	$E = 2,1\rho_{ap} - 0,08$
Fêmur Proximal	VO/VT	$E = 7,541VO/VT - 0,637$

TABELA 2 - ALGUMAS RELAÇÕES ENTRE DENSIDADE E MÓDULO DE ELASTICIDADE PARA O OSSO (HELGASON, PERILLI *ET AL.*, 2008).

De certa forma essas equações conseguem caracterizar o módulo de elasticidade do tecido ósseo. O problema é que, como pode ser visto nas Tabela 2, essas equações são muito variadas e distintas, em função do local do osso e do tipo da densidade. Mesmo que utilizem o mesmo tipo de densidade e local de extração da amostra de osso em seu cálculo, as equações divergem. A condição do teste e o tamanho do corpo de prova teoricamente não deveriam influenciar na obtenção da relação entre as densidades e módulo de elasticidade. No entanto, como cada amostra é uma estrutura caótica e única é impossível obter-se uma relação constante (HELGASON, PERILLI *et al.*, 2008).

Por fim, outros autores apresentam métodos que tratam o tecido ósseo como um material de estrutura compósita e organizada em diversos níveis (RHO, KUHN-SPEARING *et al.*, 1998), buscando o conhecimento das propriedades dos seus constituintes elementares para escrever o comportamento mecânico nesses diversos níveis ou escalas (HAMED, LEE *et al.*, 2010), utilizando-se técnicas de homogeneização e multiescala (HOLLISTER, BRENNAN *et al.*, 1994; AOUNBIZA,

CROLET *et al.*, 1996). De fato, o tecido ósseo é um material que tem comportamento relacionado com a escala de observação, pelo fato de possuir uma complexa estrutura hierárquica compósita, conforme ilustra a Figura 5, que é responsável por lhe atribuir ótimas propriedades mecânicas. Portanto, suas características, composição e propriedades mecânicas dependem do nível no qual esse material é avaliado (RHO, KUHN-SPEARING *et al.*, 1998; NORMAN, SHAPTER *et al.*, 2008; GHANBARI e NAGHDABADI, 2009).

A estrutura hierárquica do tecido ósseo, partindo-se dos constituintes elementares, pode ser composta da seguinte maneira: observa-se, primeiramente, em nível inicial, fibras de colágeno em um meio aquoso com a presença de proteínas não colagenosas. O nível seguinte é representado pelas fibras de colágeno contendo cristais de hidroxiapatita interfibrilares, gerando dessa forma fibras de colágeno mineralizadas. No seguinte, as fibras de colágeno mineralizadas são envolvidas por uma matriz extrafibrilar de hidroxiapatita, constituída de hidroxiapatita em um meio aquoso com a presença de proteínas não colagenosas. O nível final atingido neste trabalho é onde as fibras de colágeno mineralizadas em uma matriz extrafibrilar de hidroxiapatita unem-se deixando alguns espaços vazios, conhecidos como lacunas, para formar uma lamela simples (JASIUK e OSTOJA-STARZEWSKI, 2004; SANSALONE, LEMAIRE *et al.*, 2007; NIKOLOV e RAABE, 2008).

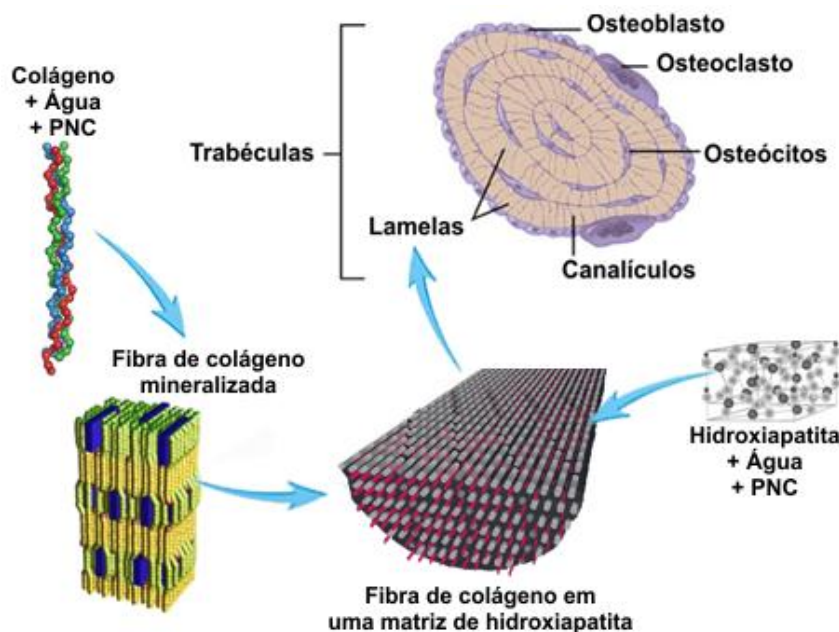


FIGURA 5 – ESTRUTURA HIERÁRQUICA DAS TRABÉCULAS DO OSSO TRABECULAR (PNC, proteínas não colagenosas).

A rigidez do tecido ósseo resulta da deposição de cálcio e fósforo na forma de fosfato de cálcio cristalino, conhecido como hidroxiapatita ( $Ca_5(PO_4)_6OH$ ), e a sua elasticidade das fibras de colágeno tipo I (BEHARI, 2009). Com a densidade desses constituintes é possível obter uma quantificação de hidroxiapatita e colágeno e

assim estimar as propriedades mecânicas partindo-se das propriedades mecânicas de cada uma dessas substâncias (DUBEY e TOMAR, 2009).

## 3.2. CONSTITUINTES ELEMENTARES DO TECIDO ÓSSEO

Os constituintes elementares do tecido ósseo podem ser divididos em basicamente três: a parte inorgânica, representada por cristais de hidroxiapatita, a parte orgânica, representada por fibras de colágeno tipo I e ainda uma terceira parte constituída de água com proteínas não colagenosas (BILEZIKIAN, RAISZ *et al.*, 1996). As propriedades mecânicas desses constituintes são o ponto de partida para a determinação das propriedades mecânicas do osso trabecular em microescala.

### 3.2.1. *HIDROXIAPATITA*

A hidroxiapatita,  $Ca_5(PO_4)_6OH$ , é o constituinte mineral do osso natural constituindo de 30 a 70% da massa dos ossos e dentes, representando um depósito de 99% do cálcio corporal e 80% do fósforo total (BEHARI, 2009). Sua fórmula química usualmente é escrita na forma  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  para indicar que um único cristal engloba duas entidades. A hidroxiapatita ocorre raramente na forma mineral, porém sua estrutura é similar a fluorapatita (com o OH- ocupando os locais do F-) (MA, LOGAN *et al.*, 1995). Esses minerais ocorrem como constituintes de várias rochas ígneas e metamórficas, especialmente em calcários cristalinos.

Alguns autores (TERAOKA, ITO *et al.*, 1998; SABER-SAMANDARI e GROSS, 2009; ZAMIRI e DE, 2010) já investigaram o comportamento mecânico de um único cristal de hidroxiapatita, através de métodos como a microindentação (VISWANATH, RAGHAVAN *et al.*, 2007) e da nanoindentação (ZAMIRI e DE, 2010). Cristais de hidroxiapatita naturais em ossos têm forma alongada, incorporados ao colágeno, o que significa que o comportamento mecânico é anisotrópico, ou seja, depende da direção dos cristais (VISWANATH, RAGHAVAN *et al.*, 2007).

Na microescala, os cristais de hidroxiapatita possuem um comportamento muito frágil, sofrendo diversas fissuras durante um ensaio de microindentação. No entanto, um ensaio de nanoindentação revela uma resposta plástica, que é evidenciada pelo acúmulo de material ao longo das bordas do indentador (ZAMIRI e DE, 2010).

Um dos mais clássicos trabalhos presentes na literatura é o de (KATZ e UKRAINCIIK, 1971), no qual são definidas as constantes do tensor de rigidez transversalmente isotrópico para um simples cristal de hidroxiapatita. Esse tensor é mostrado na equação (1).

$$C_{hap} = \begin{bmatrix} 137 & 42,5 & 54,9 & & & \\ 42,5 & 137 & 54,9 & & & \\ 54,5 & 54,9 & 172 & & & \\ & & & 39,6 & & \\ & & & & 39,6 & \\ & & & & & 47,25 \end{bmatrix} [GPa] \quad (1)$$

Esse tensor de rigidez transversalmente isotrópico é definido neste trabalho como o tensor de rigidez da hidroxiapatita, tanto para a cristalização das fibras de colágeno quanto para a formação da matriz extramíneralizada.

### 3.2.2. COLÁGENO

O colágeno é uma proteína de importância fundamental na constituição do tecido ósseo, sendo responsável por suas propriedades elásticas. O colágeno é sintetizado intracelularmente em pequenas porções e exportado para fora da célula, onde, através da atuação de enzimas polimerizantes, é definido com a sua estrutura própria, em hélice-tripla (FRASER, MACRAE *et al.*, 1979).

O colágeno tipo I, associado ao grupo dos colágenos fibrilares, é o mais comum, aparece nos tendões, na cartilagem fibrosa, no tecido conjuntivo frouxo comum, no tecido conjuntivo denso (onde é predominante sobre os outros tipos), ou seja, está presente nos ossos, tendões e pele sempre formando fibras e feixes (VARGAS, AUDÍ *et al.*, 1997).

A produção de colágeno é o resultado de uma complexa sequência de eventos bioquímicos no interior das células. Cada molécula de colágeno é um bastão pequeno e rígido formado pelo entrelaçamento em tríplice hélice de três cadeias polipeptídicas chamadas cadeias alfa (ORGEL, IRVING *et al.*, 2006). Diferentes tipos celulares podem sintetizar colágeno, dependendo de cada tecido. O colágeno tipo I é o principal produto de secreção do osteoblasto, célula responsável pela síntese da matriz óssea orgânica (BUEHLER, 2006).

Uma avaliação experimental das propriedades mecânicas de fibras de colágeno é um grande desafio devido ao seu tamanho muito pequeno, mas não é um procedimento impossível. Cusack e Miller em 1979 (CUSACK e MILLER, 1979) utilizaram a técnica de espalhamento de luz de Brillouin para obter as propriedades do colágeno de um tendão da cauda de ratos.

Ondas elásticas polarizadas de frequência em torno de 1010 Hz foram observadas longitudinalmente e transversalmente, propagando-se em diversos ângulos em relação ao eixo da fibra estendida, parcialmente seca. Eles assumiram que as propriedades elásticas do tendão fossem transversalmente isotrópicas e mensuraram as cinco constantes elásticas do tensor de rigidez. Essas constantes são mostradas na equação (2).

$$C_c = \begin{bmatrix} 11,7 & 5,1 & 7,1 & & & \\ 5,1 & 11,7 & 7,1 & & & \\ 7,1 & 7,1 & 17,9 & & & \\ & & & 3,3 & & \\ & & & & 3,3 & \\ & & & & & 3,3 \end{bmatrix} [GPa] \quad (2)$$

Esse tensor de rigidez é definido neste trabalho como o tensor de rigidez do material colágeno.

### 3.2.3. ÁGUA COM PROTEÍNAS NÃO COLAGENOSAS

Esse constituinte elementar do tecido ósseo é descrito como as partes restantes da constituição do osso, podendo ser visto como osteócitos, por exemplo. Na literatura encontram-se trabalhos que definem um valor para as propriedades mecânicas desse constituinte (FRITSCH e HELLMICH, 2007). No entanto, os valores são muito variados e não existe uma fundamentação para sua obtenção. As proteínas não colagenosas consistem de macromoléculas enroláveis e flexíveis. Um típico valor para o módulo de elasticidade polímeros moles com moléculas flexíveis é de 1 GPa e um coeficiente de Poisson de 0,45, o que deve ser bem próximo ao das proteínas não colagenosas (HAMED, LEE *et al.*, 2010). Quanto à água, conhecido seu módulo volumétrico (2,3 GPa), e adotando um valor para o coeficiente de Poisson de 0,49, material quase incompressível, pode-se chegar a um valor do módulo de elasticidade virtual de 0,138 GPa. Os tensores de rigidez isotrópicos da água e das proteínas não colagenosas são mostrados nas equações ( 3 ) e ( 4 ) respectivamente.

$$C_a = \begin{bmatrix} 2,362 & 2,269 & 2,269 & & & \\ 2,269 & 2,362 & 2,269 & & & \\ 2,269 & 2,269 & 2,362 & & & \\ & & & 0,093 & & \\ & & & & 0,093 & \\ & & & & & 0,093 \end{bmatrix} [GPa] \quad (3)$$

$$C_{pnc} = \begin{bmatrix} 3,793 & 3,103 & 3,103 & & & \\ 3,103 & 3,793 & 3,103 & & & \\ 3,103 & 3,103 & 3,793 & & & \\ & & & 0,689 & & \\ & & & & 0,689 & \\ & & & & & 0,689 \end{bmatrix} [GPa] \quad (4)$$

Esses tensores de rigidez são definidos neste trabalho como os tensores de rigidez dos materiais água e proteínas não colagenosas, respectivamente.

Um tensor constitutivo para o constituinte elementar considerando tanto água quanto as proteínas não colagenosas pode ser obtido através de um processo de homogeneização, considerando-se uma matriz aquosa com inclusões das proteínas não colagenosas, o que é mostrado mais adiante (KLUSEMANN e SVENDSEN, 2010).

### 3.3. MICROTOMOGRAFIA

A microtomografia computadorizada é uma técnica não destrutiva que reconstrói e modela interiores de amostras na escala micrométrica e obtém informações sobre sua geometria tridimensional e certas propriedades do seu material (FILLER, 2009). O conceito básico desse processo de imagem foi caracterizado por J. Radon em 1917, que provou que um objeto tridimensional pode ser reconstruído através de suas projeções bidimensionais. No entanto, a base matemática para os algoritmos atuais de reconstrução foi apresentada por Cormack em dois artigos de 1964 e 1965. Em 1975, Hounsfield construiu o primeiro scanner de tomografia computadorizada (FILLER, 2009). A possibilidade de obterem-se imagens do interior do corpo humano de uma forma não invasiva garantiu, em 1979, o prêmio Nobel de medicina para Cormack e Hounsfield (NOBELPRIZE.ORG, 1979).

Como a tomografia provê um excelente contraste para o tecido ósseo em relação aos tecidos moles, varias técnicas foram desenvolvidas no campo das pesquisas com diversos tipos de ossos. Feldkamp foi o primeiro a construir um microtomógrafo para a geração de imagens de ossos trabeculares utilizando uma técnica experimental que só foi aberta comercialmente em 1994. Com essa abertura comercial, aprimorou-se o desenvolvimento da microtomografia, tornando disponível a técnica em vários níveis de resolução (BECKMANN, 2006). A Figura 6 ilustra uma relação entre os diversos níveis de resolução disponíveis para a geração de imagens de tomografia.

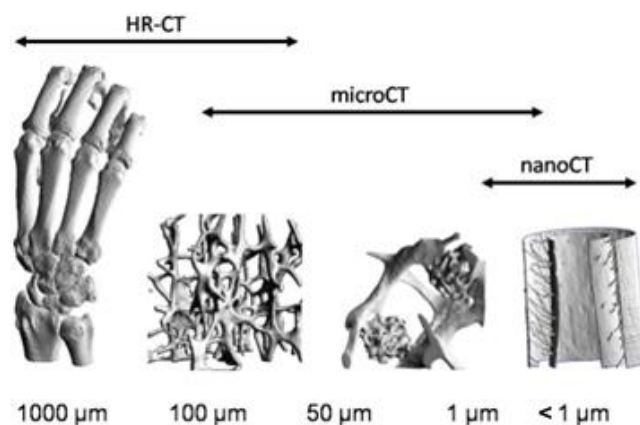


FIGURA 6 - HIERARQUIA DE ESCALA DE IMAGENS DE TOMOGRAFIA (BECKMANN, 2006).

O princípio físico básico da tomografia computadorizada é a interação de radiação com matéria (DYSON, 1993), sendo que as radiações têm sua intensidade diminuída em função do material que as absorve. As principais interações da radiação com a matéria ocorrem na forma de efeito fotoelétrico, efeito Compton e produção de pares. Ainda assim, devido às energias usadas em raios X para o diagnóstico convencional, a produção de pares não é relevante. A atenuação da energia das radiações ocorre de maneira exponencial em função da espessura do

material absorvedor. Isso significa que quanto mais espesso o material, menor é a energia da radiação que deixa o material depois de atravessá-lo, se atravessá-lo (JOHNS e CUNNINGHAM, 1983). Por outro lado, quanto maior a energia dos fótons da radiação incidente, maior é também a sua capacidade de penetração, embora se aumente, também, a probabilidade das interações ocorrerem, pois a radiação se propaga por uma distância maior e conseqüentemente, interage mais (DYSON, 1993). Matematicamente, a atenuação dos fótons ou da radiação é bem representada pela equação:

$$I = I_0 e^{-\mu b} \quad (5)$$

onde  $I_0$  é a intensidade da radiação incidente,  $I$  é a intensidade da radiação que emerge do material,  $b$  é a espessura do material absorvedor e  $\mu$  é o coeficiente de atenuação linear total e está relacionado à probabilidade dos fótons serem absorvidos.

A Figura 7 ilustra o comportamento da intensidade dos fótons de raios X com energia de 60 keV em função da espessura de um material (chumbo) (JOHNS e CUNNINGHAM, 1983) cujo coeficiente de atenuação linear é  $1 \text{ cm}^{-1}$ .

Conforme se pode observar neste gráfico, para este material, com 1,5 cm de espessura, a intensidade da radiação cai para cerca de 25 % da intensidade incidente. A ocorrência dos efeitos fotoelétrico, Compton e produção de pares dependem da energia da radiação incidente e do número atômico do material que irá absorvê-la (JOHNS e CUNNINGHAM, 1983).

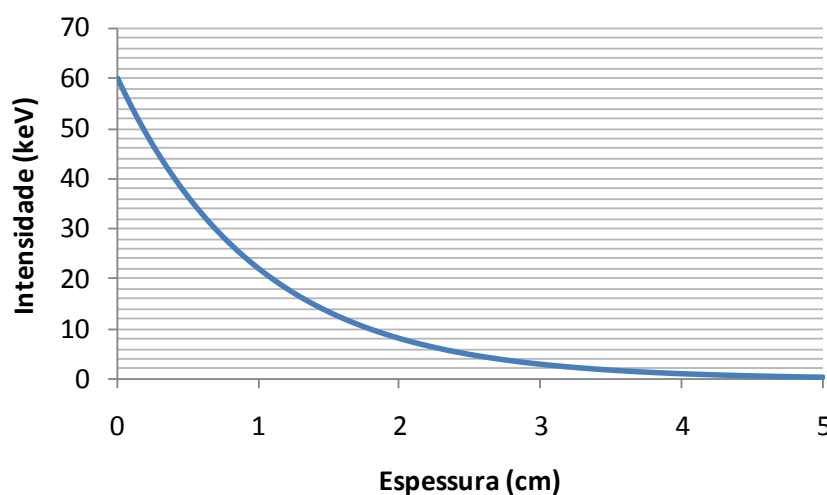


FIGURA 7 - ATENUAÇÃO DE RAIOS X POR UMA PLACA DE CHUMBO FUNÇÃO DA ESPESSURA.

A microtomografia funciona projetando-se feixes de raios X sobre as amostras. Esses feixes são coletados por um detector posicionado de lado oposto a fonte de raios X. A amostra é rotacionada em incrementos angulares e a cada incremento incidem os raios X sobre a mesma, sendo sua projeção conhecida como cone-beam, capturada pelo detector (HERMAN, SINGH *et al.*, 2009). A Figura 8

ilustra esse processo. Esse processo gera uma sequência de imagens radiológicas, capturadas pela rotação da amostra em  $360^\circ$ , função de um incremento angular definido inicialmente (HERMAN, SINGH *et al.*, 2009).

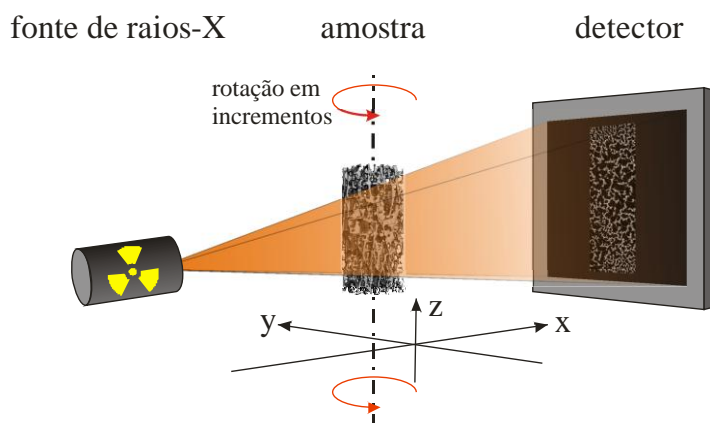


FIGURA 8 - ESQUEMA DA OBTENÇÃO DE IMAGENS VIA INCREMENTO ANGULAR.

Uma vez obtido o conjunto de projeções do sistema de microtomografia, as imagens passam por um processo de reconstrução. O processo de reconstrução constitui um caminho matemático para a obtenção de fatias transversais da amostra a partir das imagens radiológicas em incremento angular (FELDKAMP, DAVIS *et al.*, 1984).

O processo de reconstrução pode ser feito utilizando-se o algoritmo de Feldkamp modificado. O algoritmo de Feldkamp (FELDKAMP, DAVIS *et al.*, 1984) baseia-se em dois conceitos básicos para a reconstrução das fatias da amostra em função das projeções cone-beam: a backprojection e a convolução (RUSS, 2007). Backprojection identifica a posição de um objeto a partir da superposição de projeções em diferentes ângulos, conforme ilustra a Figura 9. Aumentando-se o número de projeções consegue-se uma suavidade melhor na borda do objeto.

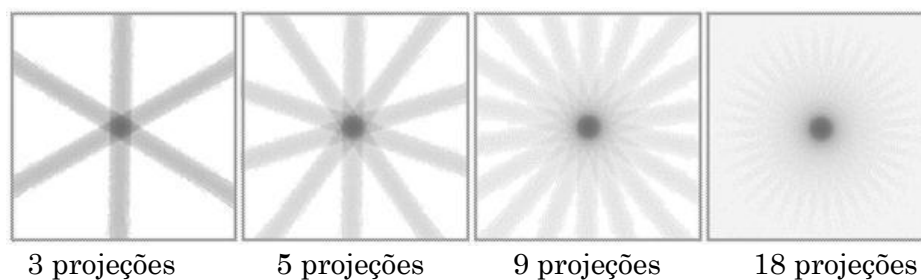


FIGURA 9 – BACKPROJECTION.

No entanto, um anel borrado ainda aparece ao redor do objeto, não importando o número de projeções sobrepostas. A eliminação desse anel borrado é feita utilizando-se a convolução (LI, CHEN *et al.*, 2007), um processo que subtrai o valor do brilho ao redor do objeto, fazendo o objeto aparecer mais nítido, conforme ilustra a Figura 10.

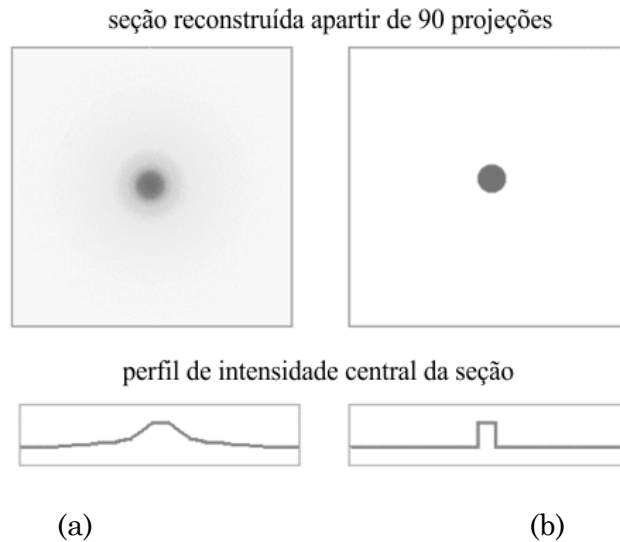


FIGURA 10 – CONVOLUÇÃO: (a) SOMENTE BACKPROJECTION, (b) BACKPROJECTION E CONVOLUÇÃO.

Uma vez já reconstruída, cada fatia transversal da amostra é construída digitalmente em forma de uma matriz digital  $N \times M$  pixels, onde  $N$  representa o número de pixels existentes na vertical e  $M$  os da horizontal, com  $M$  e  $N$  normalmente iguais. Pixel é a representação básica de um elemento bidimensional de uma imagem digital (RUSS, 2007). As fatias são calculadas a certa distância uma das outras, que no caso do microtomógrafo, Skyscan 1172 (SKYSCAN®, Kontich - Bélgica), que é utilizado neste trabalho, é exatamente igual ao tamanho do lado do pixel da imagem. Para cada valor do pixel designa-se um valor de cinza (um número que identifica a mistura de vermelho, verde e azul que faz o tom cinza) que é proporcional ao número de Hounsfield (MAH, REEVES *et al.*, 2010), que por sua vez relaciona-se com os coeficientes de absorção do detector, de acordo com a equação (6).

$$\mathcal{H} = 1000 \frac{\mu_{pixel} - \mu_{\text{água}}}{\mu_{\text{água}} - \mu_{\text{ar}}} \quad (6)$$

sendo  $\mathcal{H}$  o número de Hounsfield,  $\mu_{\text{água}}$  ( $2,262 \cdot 10^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) o valor do coeficiente de atenuação da água,  $\mu_{\text{ar}}$  ( $2,2 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ) o valor do coeficiente de atenuação do ar e  $\mu_{\text{pixel}}$  o coeficiente de atenuação mensurado pelo detector para o correspondente pixel (MAH, REEVES *et al.*, 2010).

Assim, tem-se que a região mais densa aparece mais escura e, conseqüentemente, a região que é menos densa aparece mais clara. Como a maioria dos monitores apresenta 256 níveis de cinza com um byte (1 byte = 8 bits e  $2^8 = 256$ ), a escala é montada com 0 para o preto e 255 para o branco e os valores que são intermediários a estes equivalem aos níveis de cinza propriamente dito (RUSS, 2007). A Figura 11 ilustra uma fatia tomográfica transversal de uma amostra de osso trabecular.



FIGURA 11 – FATIA TOMOGRÁFICA TRANSVERSAL.

A Figura 12 ilustra a variação na intensidade dos níveis de cinza ao longo da trabécula em uma fatia tomográfica transversal.

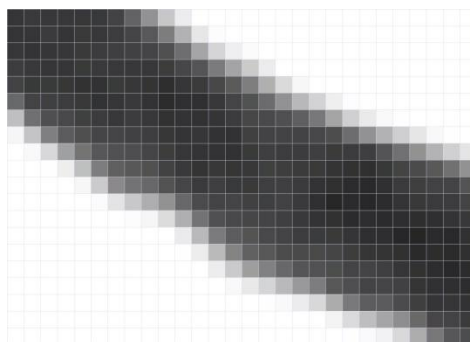


FIGURA 12 – DETALHE DOS PIXELS NA TRABÉCULA.

Observa-se na Figura 12 que há a necessidade da detecção do valor de cinza correspondente a borda da trabécula, pois existe uma variação gradual no valor de cinza entre os valores da trabécula e o branco do vazio. Esse valor pode ser obtido através de uma segmentação utilizando-se algoritmos como os de Arifin e Asano (ARIFIN e ASANO, 2006), baseados em estatísticas de valores de cinza e sua ocorrência na imagem.

Cuidados quanto a erros e defeitos na imagem da tomografia devem ser tomados, como por exemplo, com o aparecimento dos artefatos anelares (KYRIAKOU, PRELL *et al.*, 2009), endurecimento do feixe (DE PAIVA, LYNCH *et al.*, 1998), ruído (DAVIS, 2005), entre outros possíveis. Normalmente os próprios aparelhos de microtomografia possuem algoritmos matemáticos para essas correções. Além disso, superestimações dos valores de cinza podem ocorrer provenientes dos processos de extração da amostra, como se pode ver na borda externa, parte direita inferior da Figura 11, onde se identifica uma linha quase que completamente preta na circunferência externa da amostra na fatia tomográfica. Isso ocorre pelo acúmulo de tecido ósseo na borda durante o processo de corte da amostra pela utilização da broca trefina. No entanto, no caso deste trabalho, como a exata amostra que está submetida à microtomografia é submetida ao ensaio mecânico, a superestimação está presente tanto nas fatias tomográficas quanto na

amostra ensaiada, ou seja, nenhuma consideração adicional precisa ser levada em conta sobre essa superestimação (RHO, HOBATHO *et al.*, 1995).

### 3.4. ENSAIOS MECÂNICOS

Ensaio mecânicos são testes realizados com materiais conformados em padrões com dimensões específicas chamados de corpos de prova, objetivando a obtenção das suas propriedades mecânicas, como módulo de elasticidade, tensão de escoamento (materiais dúcteis), tensão de ruptura, entre outras. Diversas normas internacionais sugerem metodologias para ensaios mecânicos de tração e compressão com corpos de prova padronizados (ASTM INTERNATIONAL, 1999; 2000). Porém, materiais como o osso, de complexa geometria, elevado número de vazios e propriedades mecânicas anisotrópicas, não possuem uma referência normativa para os procedimentos de ensaio e obtenção de propriedades mecânicas generalizadas.

O osso trabecular, independente da forma do corpo de prova ou tamanho, irá apresentar durante, por exemplo, um teste de compressão, tração, flexão, torção, cisalhamento, além da própria compressão nas trabéculas, por causa de sua complexa e caótica geometria, como ilustram ensaios com corpos de prova obtidos em diversas direções (GIESEN, DING *et al.*, 2001; WANG, 2002; OHMAN, BALEANI *et al.*, 2007; TABOR e ROKITA, 2007). Além disso, um ensaio mecânico em certa amostra de osso quantifica apenas propriedades absolutas para aquele osso, relativas ao formato, e ao organismo, em função do tamanho e da direção da amostra solicitada no teste.

No entanto, testes mecânicos com amostras de osso podem ser utilizados como verificação das propriedades obtidas por outros métodos utilizando-se, por exemplo, uma análise de elementos finitos (VERHULP, VAN RIETBERGEN *et al.*, 2008; WOLFRAM, WILKE *et al.*, 2010) alimentada por parâmetros mecânicos avaliados por esses outros métodos, como os métodos de homogeneização e multiescala dos constituintes elementares do tecido ósseo.

### 3.5. HOMOGENEIZAÇÃO NA MULTIESCALA

A metodologia de mensuração de propriedades mecânicas (ensaio até a ruptura de corpos de prova) aplicada a materiais compósitos complexos demonstra que os resultados obtidos variam conforme a escala de observação. Isso ocorre por causa da estrutura hierárquica específica desses materiais (RHO, KUHN-SPEARING *et al.*, 1998). No tecido ósseo, da escala visível até a escala nanométrica, é possível distinguir entre diversas estruturas distintas, conforme já comentado. Todas essas estruturas do material trabalham juntas para produzir as propriedades globais dos ossos (mecânica, química, entre outras) (SANSALONE, LEMAIRE *et al.*, 2007).

Um modelo em escala visível, ou micrométrica neste caso, que representa de forma satisfatória as propriedades mecânicas do osso, deve considerar os diversos níveis de sua estrutura hierárquica (SANSALONE, LEMAIRE *et al.*, 2007) estudando a cada escala quais propriedades são governadas pela organização estrutural em níveis inferiores (WEINER e TRAUB, 1992).

Aproximações analíticas e semianalíticas baseadas em esquemas de volumes representativos e campos médios vem sendo utilizadas para o cálculo das propriedades mecânicas efetivas de materiais compósitos. A avaliação analítica das propriedades desses materiais pode ser obtida por meio de métodos de homogeneização (KLUSEMANN e SVENDSEN, 2010) como, por exemplo, o método de Mori-Tanaka (MORI e TANAKA, 1973), o método de Lielens, o método autoconsistente, entre outros. Esses métodos têm como um de seus objetivos a obtenção das propriedades globais de materiais compósitos em função das propriedades de seus constituintes.

Diversos trabalhos já ilustraram o fato de avaliar as escalas hierárquicas do tecido ósseo iniciando pela nanométrica até a escala visível (microescala, macroescala) para descrever seu comportamento mecânico (HELLMICH, ULM *et al.*, 2004; HAMED, LEE *et al.*, 2010). Esses métodos são baseados em dois passos para avaliar o comportamento global do compósito (TERADA, HORI *et al.*, 2000): primeiro, um problema para uma única inclusão é resolvido para se obter aproximações do comportamento local, baseando-se, em sua maioria, no método de Eshelby (ESHELBY, 1957); o segundo passo consiste em uma média dos campos locais para a obtenção do comportamento global (MERCIER e MOLINARI, 2009). O método de Eshelby trata de uma inclusão elipsoidal de material homogêneo e elástico imersa em um meio homogêneo, elástico e infinito, sob uma condição de carregamento uniforme aplicado distante da inclusão. Com essas considerações impostas, Eshelby provou que, para um campo de tensão ou de deformação uniforme aplicado distante da inclusão, a tensão ou a deformação na inclusão é também constante..

Os requisitos principais para os métodos de homogeneização na previsão de propriedades efetivas de compósitos são (ZHENG e DU, 2001): uma estrutura simples que pode ser resolvida explicitamente, de tal forma que uma interpretação física para o comportamento de todos os componentes envolvidos é possível; uma estimativa de interação válida para compósitos multifásicos com geometrias diferentes de inclusão, considerando isotropia ou anisotropia; um modelo que avalie devidamente a influência de diferentes distribuições de inclusões e das interações entre as inclusões e a matriz em seu entorno.

Os métodos de homogeneização utilizados neste trabalho são o método de Mori-Tanaka e a aproximação de Voigt. O método de Mori-Tanaka foi escolhido para a homogeneização das propriedades dos compósitos formados a cada nível hierárquico do tecido ósseo (FRITSCH e HELLMICH, 2007; HAMED, LEE *et al.*, 2010). Além disso, os valores coerentes que o método proporciona para a

homogeneização das propriedades mecânicas (KLUSEMANN e SVENDSEN, 2010), também auxiliaram a favor da escolha do método.

### 3.5.1. MÉTODO DE MORI-TANAKA

O método de Mori-Tanaka (MORI e TANAKA, 1973) utiliza o método da inclusão equivalente de Eshelby (ESHELBY, 1957). O método aproxima a interação entre as fases do compósito assumindo que cada inclusão  $i$  é incorporada, por vez, em uma matriz infinita que está submetida a um carregamento uniforme aplicado longe da inclusão, resultando em um campo de tensões e deformações médias na matriz  $\boldsymbol{\sigma}_M$  e  $\boldsymbol{\varepsilon}_M$ , respectivamente (MURA, 1993). Portanto, a deformação em uma inclusão simples  $i$  é calculada por,

$$\boldsymbol{\varepsilon}_i = \boldsymbol{\mathcal{A}}_i \boldsymbol{\varepsilon}_M \quad (7)$$

onde,  $\boldsymbol{\mathcal{A}}_i$  é o tensor de influência para uma única inclusão (KLUSEMANN e SVENDSEN, 2010).

Caso essa inclusão seja da forma elipsoidal (definida pelo tensor de Eshelby), o tensor pode ser dado por,

$$\boldsymbol{\mathcal{A}}_i = [\mathbf{I} + \mathbf{E} \mathbf{C}_M^{-1} (\mathbf{C}_i - \mathbf{C}_M)]^{-1} \quad (8)$$

sendo,  $\mathbf{I}$  o tensor identidade de quarta ordem,  $\mathbf{E}$  o tensor de Eshelby para um inclusão elipsoidal, dependente das propriedades elásticas da matriz e das inclusões,  $\mathbf{C}_i$  o tensor de rigidez da inclusão e  $\mathbf{C}_M$  o tensor de rigidez da matriz (KLUSEMANN e SVENDSEN, 2010).

Generalizando a formulação (KLUSEMANN e SVENDSEN, 2010), considerando o caso de diversas inclusões com orientações, formatos ou materiais distintos, as deformações das inclusões se relacionam com as deformações médias da seguinte maneira,

$$\boldsymbol{\varepsilon}_i^t = \boldsymbol{\mathcal{A}}_i^t \boldsymbol{\varepsilon}_M \quad (9)$$

O tensor de influência para todas as inclusões  $i$  (KLUSEMANN e SVENDSEN, 2010), é escrito como,

$$\boldsymbol{\mathcal{A}}_i^t = \left[ f_i \mathbf{I} + f_M \boldsymbol{\mathcal{A}}_i^{-1} + \sum_j^N f_j \boldsymbol{\mathcal{A}}_j \boldsymbol{\mathcal{A}}_i^{-1} \right]^{-1} \quad (10)$$

sendo,  $f_i$  a fração volumétrica das inclusões do tipo  $i$ ,  $f_j$  fração volumétrica das inclusões do tipo  $j$  ( $j=1, 2, 3...N$ ), definida para cada tipo de inclusão em  $N$  tipos diferentes de inclusões e  $f_M$  a fração volumétrica da matriz (DESRUMAUX, MERAGHNI *et al.*, 2001). No caso de existirem apenas duas fases no material, a matriz e um tipo de inclusão, a fração volumétrica das inclusões diferentes da inclusão  $i$ , na equação (10), é considerada como nula, resultando em uma simplificação no tensor de influência para todas as inclusões, sendo reescrito como,

$$\mathcal{A}_i^t = [f_i \mathbf{I} + f_M \mathcal{A}_i^{-1}]^{-1} \quad (11)$$

Usa-se a equação ( 8 ) para o tensor de influência de uma inclusão ( $\mathcal{A}_i$ ) (MURA, 1993). Os formatos de inclusões como esférico, cilíndrico, cilindro-elipsoidais, podem ser derivados da formulação elipsoidal ajustando-se o tensor de Eshelby, de acordo com os comprimentos dos eixos principais do elipsoide (MURA, 1993). Por exemplo, para uma esfera, os eixos principais do elipsoide têm tamanhos iguais, para um cilindro, um dos eixos tem tamanho infinito e assim por diante.

As frações volumétricas das inclusões e da matriz se relacionam da seguinte maneira (HAMED, LEE *et al.*, 2010),

$$f_i + f_M = 1 \quad (12)$$

De acordo com Hill (HILL, 1963), o tensor de rigidez efetivo do compósito pode ser escrito de acordo com a seguinte relação:

$$\mathbf{C}_{ef} = \mathbf{C}_M + \sum_i f_i (\mathbf{C}_i - \mathbf{C}_M) \mathcal{A}_i^t \quad (13)$$

Essa relação indica que a rigidez das inclusões é acrescida a rigidez da matriz em função de sua fração volumétrica e uma diferença entre seus tensores de rigidez ponderada pelo tensor de influência.

Com esses resultados, pode-se escrever o tensor de rigidez efetivo ( $\mathbf{C}_{ef}$ ) para o compósito bifásico como (BENVENISTE, 1987),

$$\mathbf{C}_{ef} = \mathbf{C}_M + f_i (\mathbf{C}_i - \mathbf{C}_M) \mathcal{A}_i (f_i \mathcal{A}_i + f_M \mathbf{I})^{-1} \quad (14)$$

Esse método pode ser interpretado no sentido de que cada inclusão se comporta como uma inclusão isolada na matriz sendo  $\boldsymbol{\varepsilon}_M$  um campo de deformações distante (BENVENISTE, 1987).

O tensor de Eshelby utilizado na equação ( 8 ) é um tensor de quarta ordem que relaciona as perturbações no campo de deformações<sup>1</sup>, função da forma e material das inclusões e da matriz, com a deformação total do compósito (MURA, 1993). Se ambos os materiais, tanto da inclusão quanto da matriz, forem materiais isotrópicos ou transversalmente isotrópicos, o tensor de Eshelby tem solução analítica, dada respectivamente por Mura (MURA, 1993) e Li e Dunn (LI e DUNN, 1998).

No caso das inclusões estarem em uma matriz de material anisotrópico, é necessário calcular o tensor de Eshelby através de um método numérico (KLUSEMANN e SVENDSEN, 2010). O tensor de Eshelby pode ser calculado por uma integral de superfície, parametrizada na superfície de uma esfera de raio

---

<sup>1</sup> Definido por Mura (MURA, 1993) como “Eigenstrains”, traduzido pelo autor para esse caso específico como “perturbações no campo de deformações”.

unitária (escrito utilizando-se notação indicial para ressaltar as somatórias) (MURA, 1993), sendo dado por,

$$E_{ijkl} = \frac{1}{8\pi} C_{Mijkl} \int_{-1}^1 \int_0^{2\pi} [G_{imjn}(\bar{\zeta}) + G_{jmin}(\bar{\zeta})] d\theta d\bar{\zeta}_3 \quad (15)$$

sendo,  $G_{imjn}(\bar{\zeta})$  o tensor de funções de Green, derivado do método das funções de Green para a descrição das perturbações no campo de deformações (MURA, 1993).

A transformação das coordenadas do elipsóide em coordenadas de uma esfera unitária se faz através de uma parametrização<sup>2</sup> e uma normalização (GREENBERG, 1998), mostradas nas equações (16) e (20) respectivamente.

$$\zeta_1 = (1 - \zeta_3^2)^{1/2} \cos \theta \quad (16)$$

$$\zeta_2 = (1 - \zeta_3^2)^{1/2} \sin \theta$$

$$\bar{\zeta}_i = \frac{\zeta_i}{a_i} \quad (17)$$

O tensor das funções de Green é definido através da relação,

$$G_{ijkl}(\bar{\zeta}) = \bar{\zeta}_k \bar{\zeta}_l \frac{N_{ij}(\bar{\zeta})}{D(\bar{\zeta})} \quad (18)$$

na qual,  $N_{ij}(\bar{\zeta})$  são os cofatores do tensor  $K_{ik}(\bar{\zeta})$  e  $D(\bar{\zeta})$  o determinante desse tensor (MURA, 1993).

O tensor  $K_{ik}(\bar{\zeta})$  é uma notação usada por Mura (MURA, 1993) para definir o lado esquerdo da relação entre deslocamentos e a perturbação do campo das deformações. Esse tensor é escrito como,

$$K_{ik}(\bar{\zeta}) = C_{Mijkl} \bar{\zeta}_j \bar{\zeta}_l \quad (19)$$

Utilizando-se o método numérico de integração de Gauss-Legendre, a equação (15) é reescrita como,

$$E_{ijkl} = \frac{1}{8\pi} C_{Mijkl} \sum_{p=1}^{n_p} \sum_{q=1}^{n_q} [G_{imjn}(\theta_q, \bar{\zeta}_{3p}) + G_{jmin}(\theta_q, \bar{\zeta}_{3p})] W_q W_p \quad (20)$$

onde,  $n_p$  é o número de pontos de Gauss na direção  $\bar{\zeta}_3$ ,  $n_q$  o número de pontos de Gauss na direção angular  $\theta$ ,  $W_p$  e  $W_q$  os respectivos pesos de Gauss (DESRUMAUX, MERAGHNI *et al.*, 2001).

Calculando-se o tensor de Eshelby é possível calcular o tensor de influência das inclusões e, portanto, encontrar o tensor de rigidez efetivo para o compósito.

---

<sup>2</sup> Como o raio é unitário, ele é suprimido na formulação. A parametrização é feita para facilitar a integração.

### 3.5.2. APROXIMAÇÃO DE VOIGT

Além do método de homogeneização de Mori-Tanaka utilizado para os compósitos bifásicos existentes em cada nível hierárquico do osso trabecular, é utilizada a aproximação de Voigt (MURA, 1993) para a homogeneização de um compósito multifásico onde não existe uma matriz definida, sendo composto de diversas inclusões, dispostas lado a lado, com diversas propriedades mecânicas. A equação do método é ilustrada pela equação ( 21 ).

$$\mathbf{C} = \sum_{i=1}^N f_i \mathbf{C}_i \quad ( 21 )$$

sendo,  $N$  o número total de fases do compósito em questão,  $f_i$  a fração volumétrica de cada fase,  $\mathbf{C}_i$  o tensor de rigidez de cada fase e  $\mathbf{C}$  o tensor de rigidez efetivo do compósito.

O método de Voigt é conhecido da literatura por apresentar valores superestimados, sendo usado como limite superior (HAMED, LEE *et al.*, 2010) para a análise de métodos de homogeneização. No entanto, por se tratar de um material idealizado, onde não se define uma matriz, o método pode ser aplicado na forma de uma primeira aproximação para o problema.

## 4. METODOLOGIA

O tecido ósseo é um material vivo e, portanto, têm suas propriedades mecânicas em função de inúmeras variáveis biológicas, como quantidade de certos hormônios, de variáveis biomecânicas, como quantidade de exercício físico que o indivíduo se submete, e de variáveis físicas, como densidade óssea, sendo diferentes em cada indivíduo (COMPSTON, MELLISH *et al.*, 1989). A análise do material proposto neste trabalho é restrita ao tecido ósseo de um indivíduo com certas características de vida, no instante em que suas funções de regeneração e reabsorção cessaram marcado pelo momento da extração da amostra. A degradação das propriedades do tecido deve ser minimizada para que a aquisição de imagens tomográficas e os ensaios mecânicos revelem as propriedades originais do osso extraído.

A metodologia é desenvolvida visando a possibilidade de ser aplicada *in vivo* para a obtenção de propriedades do tecido ósseo que caracterizem mecanicamente partes específicas do osso trabecular humano. A tecnologia da microtomografia é utilizada para quantificação de propriedades do osso, no caso deste trabalho, de frações representativas de material e de vazios no nível micrométrico, função do valor de cinza de cada pixel das imagens tomográficas, caracterizando-se assim cada pixel dessa amostra específica.

A comparação entre os valores obtidos por uma simulação computacional de um ensaio mecânico de compressão do modelo de osso trabecular representativo em sua geometria tridimensional à amostra de osso, alimentada pelas propriedades específicas em cada região micrométrica, representativa do volume de um voxel, com um ensaio mecânico físico de compressão dessa mesma amostra, representará a validação da metodologia proposta.

### 4.1. AMOSTRAS DE OSSO TRABECULAR

As amostras de tecido humano, autólogos e homólogos, utilizadas para a análise são obtidas através do projeto de pesquisa intitulado “Metodologia para obtenção de parâmetros materiais de estruturas trabeculares ósseas”, aprovado pelo Conselho Nacional de Saúde através da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) de acordo com a folha de rosto para a pesquisa envolvendo seres humanos FR-393960, que trata da parceria entre o grupo de Bioengenharia da Universidade Federal do Paraná e o Hospital Vita. O local, o tipo do osso, a disposição e o crescimento trabecular não devem ser levados em consideração, pois o objetivo é obter parâmetros para o tecido ósseo, geometria e propriedades, para que a metodologia seja válida para qualquer osso trabecular de qualquer parte do corpo, inclusive para qualquer osso trabecular proveniente de bovinos, ovinos, murídeos, humanos, ou seja, qualquer osso com as características do osso trabecular.

Essas amostras são os descartes cirúrgicos extraídos da tíbia humana retirados durante procedimentos cirúrgicos no joelho. Os procedimentos são os seguintes (fonte: Procedimentos cirúrgicos no joelho, GRUPO VITA, Hospital VITA Curitiba, Rodovia BR 116, Km 396, nº 4021 Bairro Alto - Curitiba – PR):

- Prótese total do joelho: Após a cirurgia de prótese total do joelho, estruturas ósseas são retiradas para substituição, tornando-se excedentes;
- Ligamento cruzado anterior com enxerto homólogo: Na reconstrução de ligamento cruzado anterior com enxerto homólogo, um dos primeiros passos é o preparo do enxerto. Nessa preparação, as estruturas ósseas excedentes do enxerto homólogo são retiradas;
- Osteotomia tibial com enxerto autólogo: Na osteotomia tibial com enxerto autólogo, o enxerto tem função de sustentação. Essa peça óssea passa pela preparação que gera porções ósseas que são desprezadas.

Os pacientes são abordados antes do procedimento cirúrgico, sendo apresentados à pesquisa e indagados sobre a possibilidade de participação. Os pacientes que aceitarem que as peças ósseas excedentes, que seriam desprezadas, sejam usadas no estudo, assinam o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE), autorizando a utilização das peças em questão pela pesquisa.

O enxerto ou peça óssea excedente é registrado e embalado, sendo enviado com um número de registro que identifica o paciente. O médico responsável é o único com acesso a identificação do paciente. A identidade não é revelada em nenhum passo do estudo.

As amostras retiradas são de tamanhos e forma variáveis, sendo preparadas utilizando-se uma broca trefina (Broca Trefina, NEODENT, Curitiba – PR - Brasil) (Figura 13) e um disco diamantado (Figura 14) de corte preciso para remodelar a amostra em um cilindro de diâmetro de 5 mm e 13 mm de altura e manter as extremidades do cilindro paralelas.

Após a conformação, as amostras devem passar por um processo de limpeza (Figura 15), para a remoção da medula óssea do seu interior. Essa limpeza é feita utilizando-se um equipamento de ultrassom (Banho de Limpeza Ultrassom - Q335D, QUIMIS®, Diadema - SP – Brasil). A minimização da degradação de suas propriedades é feita com a manutenção das amostras saturadas em uma solução a 0,9 % de cloreto de sódio que, além disso, mantém o equilíbrio osmótico.



FIGURA 13 – BROCA TREFINA (fonte: catálogo neodent 2010).

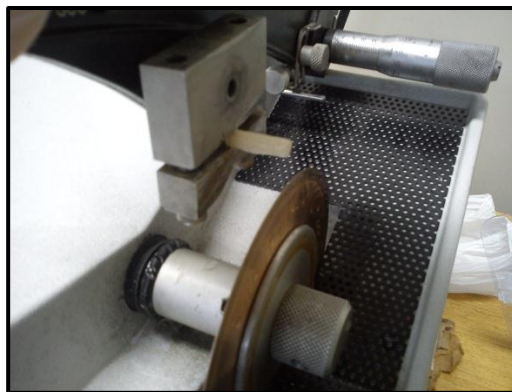


FIGURA 14 – APARELHO DE CORTE UTILIZADO PARA MANTER AS EXTREMIDADES DO CILINDRO PARALELAS.



FIGURA 15 – APARELHO DE ULTRASSOM UTILIZADO NA LIMPEZA DAS AMOSTRAS.

Após os testes, as amostras são embaladas em material plástico tipo lixo hospitalar, sendo devolvidas ao hospital de origem para destinação adequada.

## 4.2. MICROTOMOGRAFIA

As amostras de tecido ósseo após serem limpas e passarem pelo procedimento de conformação, transformando-as em formato cilíndrico, são submetidas à microtomografia para a aquisição das fatias tomográficas transversais. Essas fatias são utilizadas tanto para a reconstrução geométrica tridimensional computacional da amostra, quanto para a obtenção de propriedades específicas do seu material, no caso, as frações volumétricas.

### 4.2.1. AQUISIÇÃO E RECONSTRUÇÃO DAS FATIAS 2D

O aparelho que é utilizado para a aquisição tomográfica é o microtomógrafo SkyScan 1172 de alta resolução (SKYSCAN®, Kontich - Bélgica) (Figura 16). A aquisição de imagens radiológicas para cada amostra é feita de acordo com o exposto em 3.3, utilizando 80 kV (quilovolts) de energia e 124 mA (microampères)

de corrente com filtragem de alumínio de 0,5 mm e um tempo de exposição de 6000 ms (milissegundos) a cada passo de rotação de  $0,42007^\circ$  num total de  $360^\circ$ , o que resulta em 857 imagens. Outros parâmetros de configuração do aparelho e seus respectivos valores utilizados são: média de quadros, 2; movimentos aleatórios, 6; correção geométrica; filtragem mediana; correção do campo plano. Duração total da aquisição radiológica, 2 horas, 53 minutos e 20 segundos.

A amostra é posicionada a uma distância da fonte de raios X de 166,5 mm, o que garantiu uma precisão de  $5,25\ \mu\text{m}$  de lado para cada unidade básica da imagem digital, o pixel, após a reconstrução das fatias tomográficas.

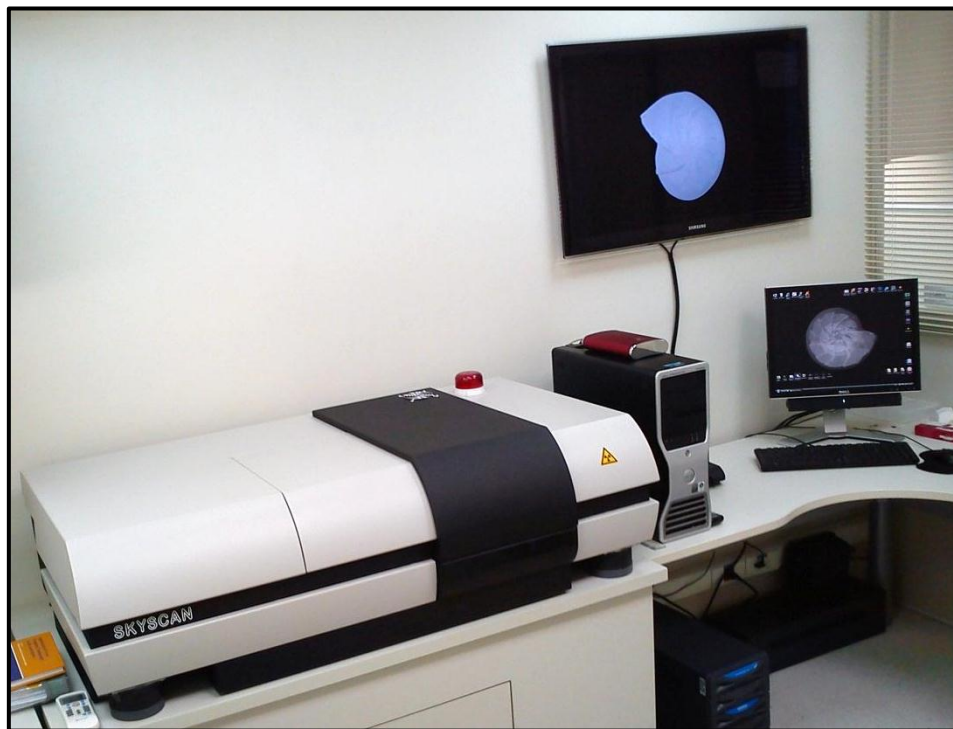


FIGURA 16 – APARELHO UTILIZADO NA AQUISIÇÃO DAS IMAGENS RADIOLÓGICAS, SKYSCAN 1172 DE ALTA RESOLUÇÃO.

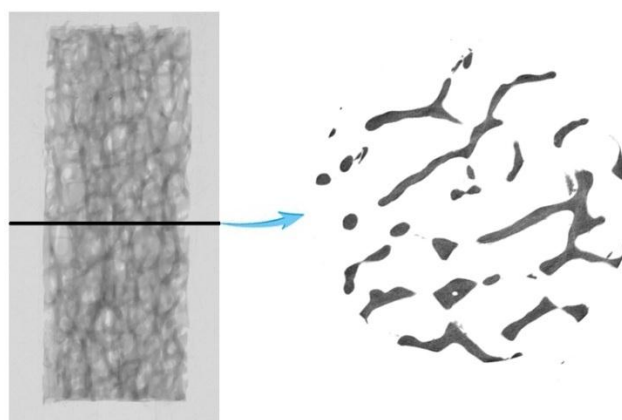


FIGURA 17 – IMAGEM RADIOLÓGICA DA AMOSTRA DE OSSO TRABECULAR E UMA DAS FATIAS TOMOGRÁFICAS RECONSTRUÍDAS.

A reconstrução das fatias transversais das amostras é feita utilizando-se o algoritmo de Feldkamp modificado e quatro computadores ligados em paralelo para o processamento, utilizando-se o programa de reconstrução NRecon (SKYSCAN®, Kontich - Bélgica), versão 1.6.3.0, o qual executa ações como o exposto em 3.3. A resolução das imagens digitais resultantes é de 1360 x 1360 pixels com o tamanho do pixel de 5.25012  $\mu\text{m}$ , totalizando 2572 imagens de 1,76 MB (Megabytes) de tamanho em disco (total 4,43 GB), as quais representam seções transversais da amostra de osso em função da altura.

Após a reconstrução, são aplicados algoritmos de limpeza das imagens para a remoção de ruído e defeitos provenientes de erros durante o processo de aquisição e reconstrução, como artefatos anelares ou endurecimento do feixe. Esses defeitos são corrigidos pelo próprio programa do microtomógrafo, o NRecon (SKYSCAN®, Kontich - Bélgica), sendo os valores utilizados para essas correções de: artefatos anelares, 10; endurecimento do feixe, 25 %; alisamento, 0. Os valores utilizados para essas correções basearam-se em análise visual do seu efeito na imagem objetivando a remoção dos defeitos sem a deformação da imagem, principalmente em relação aos graus de cinza das fatias tomográficas transversais, os quais, após a obtenção do valor de cinza, podem predizer a quantidade de material ou de vazios existente em cada pixel.

#### *4.2.2. SEGMENTAÇÃO E GERAÇÃO DO MODELO GEOMÉTRICO REPRESENTATIVO TRIDIMENSIONAL*

A segmentação das fatias tomográficas transversais é o processo no qual são selecionados os pixels das imagens correspondentes ao tecido ósseo, identificando-os para serem usados na geração do modelo geométrico representativo tridimensional.

A segmentação normalmente é feita visualmente definindo-se limites superiores e inferiores para os níveis de cinza da imagem. Entretanto, neste trabalho, foram utilizadas duas técnicas de segmentação: a primeira implementando um algoritmo de segmentação automatizada, baseado nos limites do histograma das imagens, utilizando análise hierárquica agrupada, desenvolvido por Arifin e Asano (ARIFIN e ASANO, 2006). Esse algoritmo retorna limites máximo e mínimo de valores de cinza das imagens, sendo que os valores intermediários a esses limites representam o tecido ósseo. A Figura 18 ilustra o resultado para uma fatia transversal.

O segundo processo de segmentação é conhecido como região de crescimento (TREMEAU e BOREL, 1997). Esse processo serve para limitar a região de pixel selecionada de acordo com a conectividade e continuidade dos pixels, ou seja, somente os pixels dentro dos limites estipulados na primeira etapa da segmentação que tenham conectividade uns com os outros são selecionados. Os demais são excluídos da seleção. Essa etapa serve para eliminar as ilhas presentes nas imagens das fatias tomográficas, que representam estruturas fora do corpo principal da estrutura trabecular da amostra, como restos de medula ou partes de

tecido mole desprendido. Os pixels selecionados são gravados em imagens binarizadas, representativas de cada fatia tomográfica transversal, em preto e branco, sendo o preto representativo da região de osso trabecular. A Figura 19 ilustra esse procedimento.

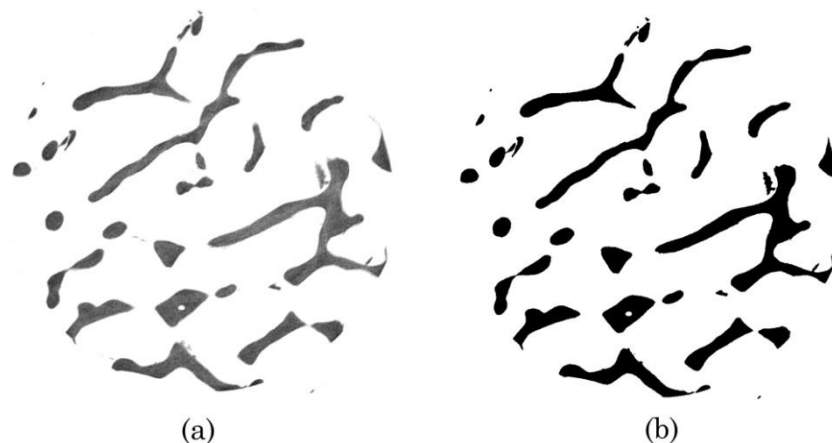


FIGURA 18 – PRIMEIRA ETAPA DA SEGMENTAÇÃO: DEFINIÇÃO DOS LIMITES MÁXIMOS E MÍNIMOS DE VALORES DE CINZA PARA O TECIDO ÓSSEO. (a) IMAGEM ORIGINAL, (b) SELEÇÃO DOS PIXELS DO OSSO EM PRETO.

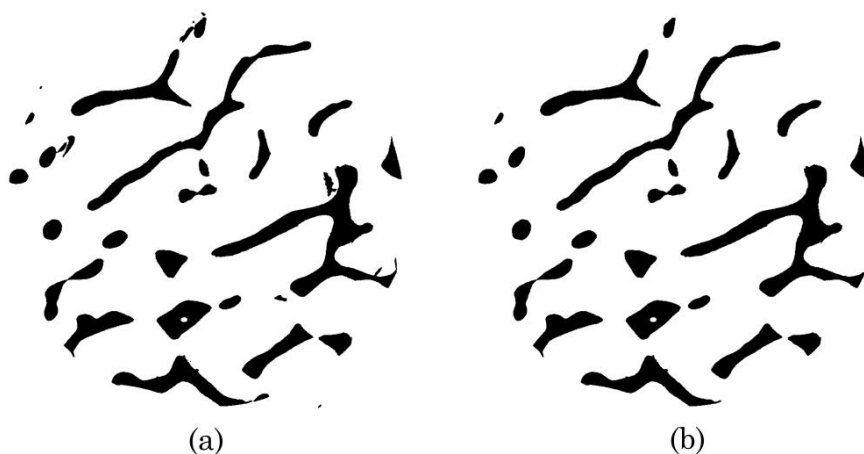


FIGURA 19 – SEGUNDA ETAPA DA SEGMENTAÇÃO: REGIÃO DE CRESCIMENTO PELA CONECTIVIDADE E CONTINUIDADE. (a) IMAGEM ORIGINAL, (b) REMOÇÃO DAS ILHAS.

Um algoritmo em python é escrito para executar ambos os procedimentos.

As imagens resultantes da segmentação são importadas para o software ScanIP (Simpleware®, Innovation Centre, Exeter, Reino Unido), onde são gerados sólidos tridimensionais que descrevem geometricamente a estrutura da amostra de osso trabecular.

O arquivo resultante dessa geração possui o formato STL. STL é um formato de arquivo nativo de softwares CAD de estereolitografia<sup>3</sup> criado pela 3D Systems (3D Systems Corporation, Rock Hill, SC, Estados Unidos). Um arquivo STL é um arquivo de texto contendo comandos que geram uma representação triangular de uma superfície tridimensional, descritos através de uma normal unitária e dos vértices dos triângulos. Uma ilustração do código de um arquivo STL para um triângulo generalizado é mostrado na Figura 20.

```
facet normal ni nj nk
  outer loop
    vertex v1x v1y v1z
    vertex v2x v2y v2z
    vertex v3x v3y v3z
  endloop
endfacet
```

FIGURA 20 – CÓDIGO PARA UM TRIÂNGULO NO FORMATO STL.

A Figura 21 ilustra o modelo geométrico representativo tridimensional gerado pelo ScanIP para uma das amostras de osso trabecular.

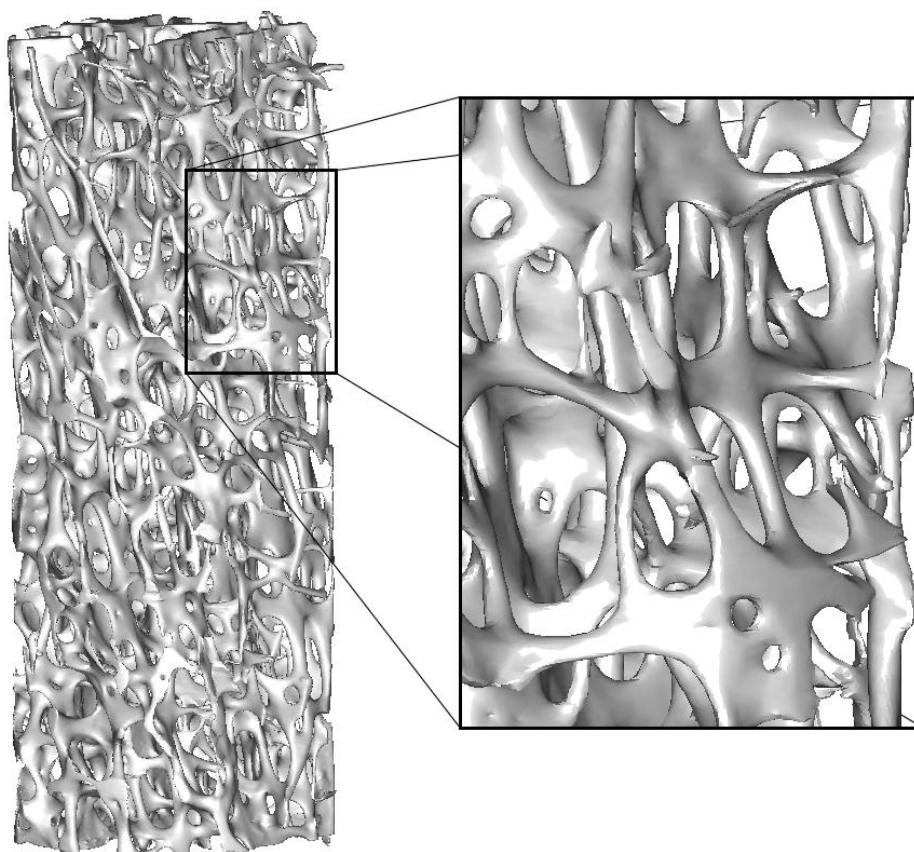


FIGURA 21 - MODELO GEOMÉTRICO REPRESENTATIVO TRIDIMENSIONAL.

<sup>3</sup> Estereolitografia (SL ou SLA) é uma tecnologia aditiva de fabricação para a produção de modelos, protótipos, testes padrões, e em alguns casos, produção de peças.

A partir do modelo geométrico representativo tridimensional descrito no formato STL é possível gerar uma malha de elementos finitos tetraédricos para a análise de tensões.

### 4.2.3. DISCRETIZAÇÃO EM ELEMENTOS FINITOS

A discretização em malha de elementos finitos da geometria tridimensional foi feita utilizando-se a versão de avaliação válida por 15 dias do software Amira® (Visage Imaging, Inc. San Diego, CA, Estados Unidos), baseando-se nos arquivos STL, que contém a descrição do modelo geométrico representativo tridimensional, gerados pelo ScanIP. O arquivo resultante dessa discretização é um arquivo de texto onde estão descritas as coordenadas dos nós e a incidência de cada elemento.

A malha gerada pelo Amira® é constituída de elementos tetraédricos de quatro nós, o que significa que possuem uma interpolação linear dos deslocamentos. Um algoritmo em python foi desenvolvido para a transformação em tetraedros quadráticos, acrescentando um nó intermediário em cada uma das arestas, totalizando 10 nós em cada elemento. A Figura 22 mostra uma visualização de uma das amostras após a geração da malha de elementos finitos.

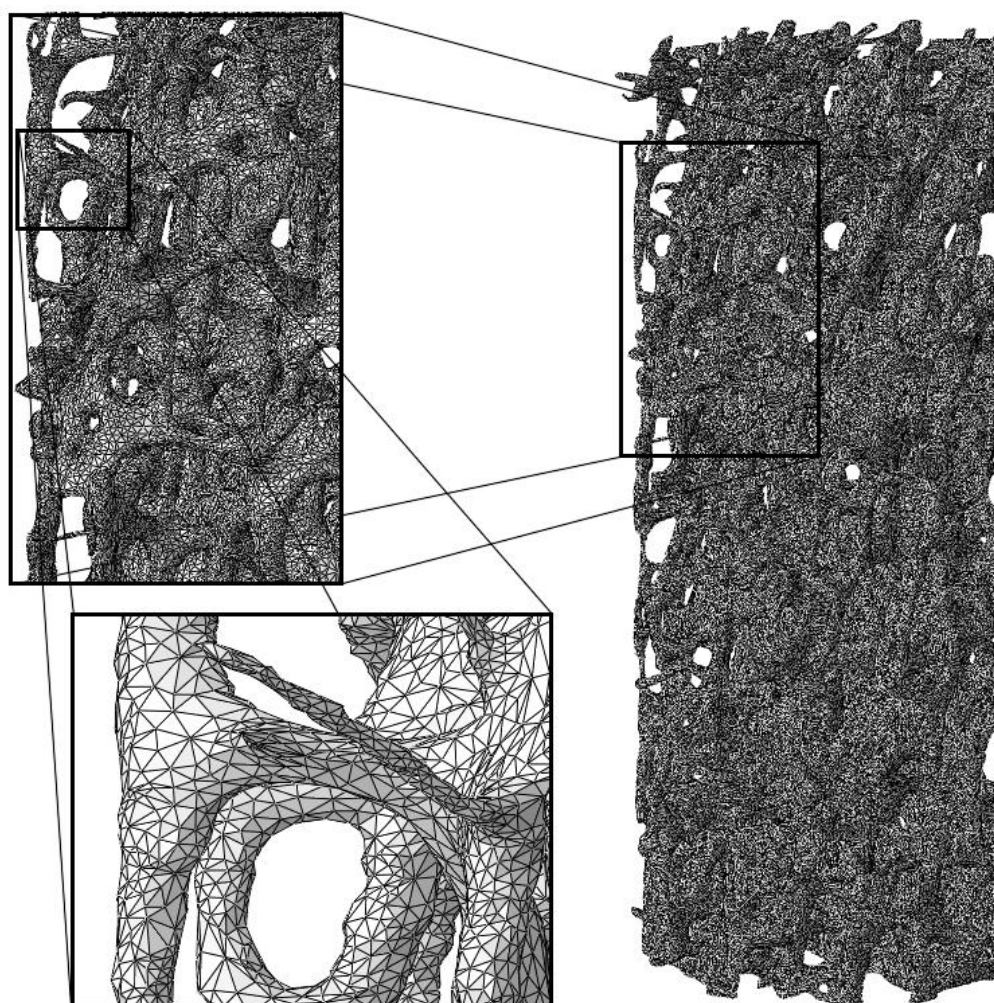


FIGURA 22 – AMOSTRA DE OSSO DISCRETIZADA EM ELEMENTOS FINITOS.

As malhas de elementos finitos das amostras de osso foram geradas para que tenham em média 3.300.000 elementos. Esse valor foi encontrado através da extrapolação para todo o volume da amostra, do número de elementos necessários para que uma análise de tensões em um pedaço de trabécula do osso, submetido a uma carga qualquer, resulte em valores constantes de tensões normais função do refino da malha, ou seja, foi feita uma análise de convergência de malha.

### 4.3. ENSAIOS MECÂNICOS

Após a aquisição das imagens radiológicas, as amostras de osso trabecular são submetidas a um ensaio mecânico de compressão (TURNER e BURR, 1993).

Os ensaios mecânicos foram realizados utilizando-se a Máquina Universal de Ensaio DL 10.000, eletromecânica, microprocessada, marca EMIC (EMIC – Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda.), programada através de um script em linguagem TestScript para a execução automatizada do ensaio. Uma célula de carga com capacidade máxima de 50 kgf é utilizada para a aquisição dos esforços. Uma imagem do equipamento é mostrada na Figura 23.



FIGURA 23 – MÁQUINA UNIVERSAL DE ENSAIOS DL 10.000, EMIC (EMIC – EQUIPAMENTOS E SISTEMAS DE ENSAIO LTDA).

No script de ensaio são definidas a velocidade do ensaio, 0,01 mm/min, o deslocamento total, 3 mm, e a detecção da ruptura do material configurada para finalizar o ensaio com 40 % de ruptura detectada (relação entre a tensão após o início da ruptura e a tensão de pico atingida no ensaio).

As amostras são centralizadas no estágio de carga do equipamento aproximando-se a mesa superior o máximo possível do topo da amostra sem, no

entanto, encostar, iniciando-se assim o ensaio com carga de reação zero, conforme ilustra a Figura 24.

A Figura 25 ilustra a amostra após a ruptura. O resultado é um gráfico que relaciona a força de reação na célula de carga com deslocamento da mesa superior do equipamento. Com esse resultado é possível avaliar as propriedades mecânicas globais da amostra (FYHRIE e KIMURA, 1999).

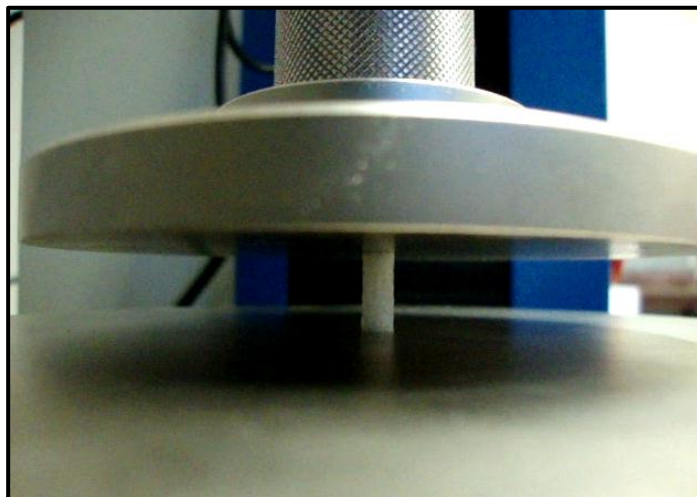


FIGURA 24 – AMOSTRA POSICIONADA NO ESTÁGIO DE CARGA PARA A EXECUÇÃO DO TESTE DE COMPRESSÃO.

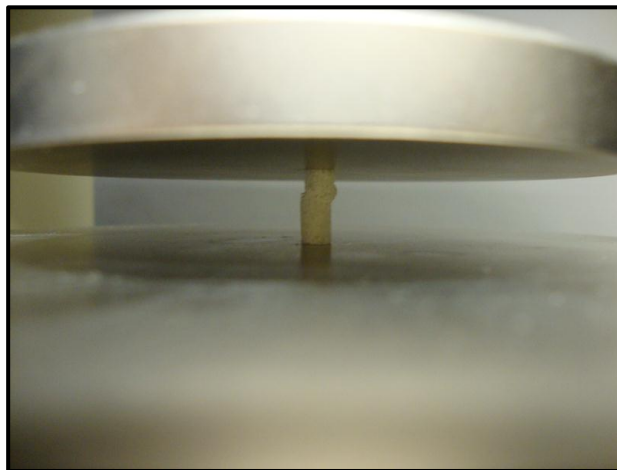


FIGURA 25 – AMOSTRA APÓS A RUPTURA.

Sendo essa a etapa final de utilização das amostras físicas de osso trabecular, as mesmas são embaladas em material plástico tipo lixo hospitalar e devolvidas ao hospital de origem para destinação adequada.

#### 4.4. HOMOGENEIZAÇÃO EM CADA NÍVEL HIERÁRQUICO

A estrutura hierárquica do tecido ósseo, discutida neste trabalho, é formada por quatro níveis distintos denominados: nanoescalar, supernanoescalar,

submicroescalar e microescalar. É considerado, a cada nível, o material com duas fases distintas, uma a matriz e outra as inclusões, sendo a forma das inclusões determinada por uma aproximação do seu formato real em uma forma matematicamente conhecida. Além disso, conforme comentado na seção 3.5, as inclusões deve ser muito menores do que a matriz. Sendo assim, a cada nível hierárquico são definidas inclusões formadas por estruturas existentes em níveis inferiores, inseridas em uma matriz constituída pelo material abundante no nível referenciado.

A homogeneização dos constituintes é feita para cada nível para a obtenção do tensor de rigidez efetivo, o qual representa o comportamento mecânico equivalente do compósito. O principal método de homogeneização utilizado para esse procedimento é o método de Mori-Tanaka, conforme o exposto na seção 3.5. O método é aplicado em cada nível de forma similar. O tensor de rigidez efetivo do nível em questão é utilizado no nível seguinte para as inclusões e assim por diante até o nível final.

De acordo com a estrutura hierárquica do tecido ósseo (WEINER e TRAUB, 1992) para este trabalho, definida na seção 3.1, os passos de homogeneização executados a cada nível são:

- Nível nanoescalar, primeira homogeneização: água (matriz) e proteínas não colagenosas (inclusões), gerando o meio aquoso;
- Nível nanoescalar, segunda homogeneização: fibras de colágeno (matriz) e o meio aquoso (inclusões), gerando fibras de colágeno úmidas;
- Nível supernanoescalar, primeira homogeneização: fibras de colágeno úmidas (matriz) e cristais de hidroxiapatita interfibrilares (inclusões), gerando fibras de colágeno mineralizadas;
- Nível supernanoescalar, segunda homogeneização: hidroxiapatita extrafibrilar (matriz) e o meio aquoso (inclusões), gerando hidroxiapatita extrafibrilar úmida;
- Nível submicroescalar: hidroxiapatita extrafibrilar úmida (matriz) e fibras de colágeno mineralizadas (inclusões), gerando a matriz lamelar;
- Nível microescalar: matriz lamelar (matriz) e cavidades lacunares (inclusões), gerando uma lamela simples.

A relação no nível final entre a lamela simples e as lacunas é função das frações volumétricas de ambos os constituintes, assim como todos os níveis, porém com essas frações calculadas em função do valor de cinza proveniente das fatias tomográficas transversais, obtendo-se assim o tensor de rigidez efetivo, na microescala, específico da amostra de osso trabecular em análise.

#### 4.4.1. *NANOESCALA: CONSTITUINTES ELEMENTARES*

Na nanoescala existem duas homogeneizações para a geração do compósito da estrutura hierárquica do osso existente nesse nível, chamado de fibras de colágeno úmidas (ORGEL, IRVING *et al.*, 2006).

Um esquema dos constituintes elementares e a montagem dos compósitos para a homogeneização é mostrado na Figura 26.

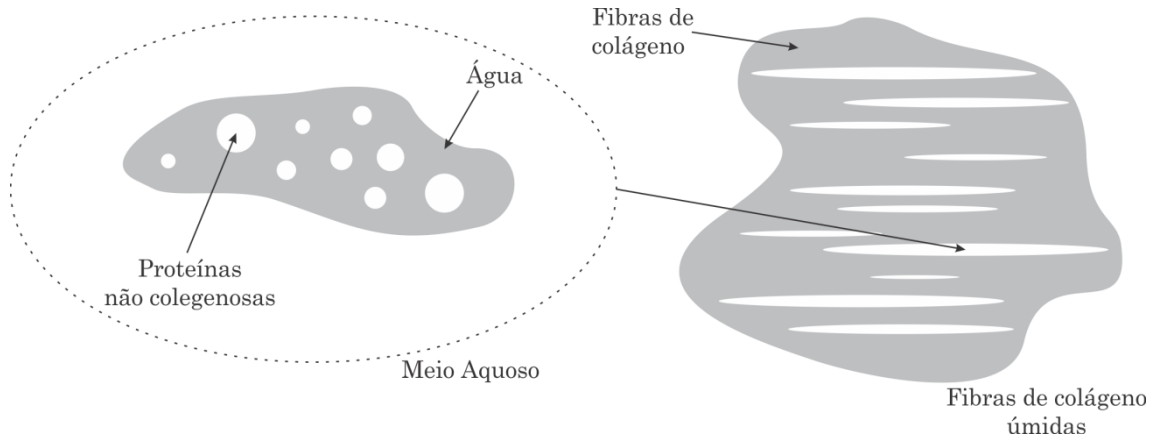


FIGURA 26 – COMPÓSITOS E SUA MONTAGEM PARA A NANOESCALA.

Na primeira homogeneização, as proteínas não colagenosas são tratadas como inclusões esféricas dentro de uma matriz de água. Aplicando-se o método de Mori-Tanaka, definido na seção 3.5, pode-se escrever o tensor de rigidez para o meio aquoso ( $\mathbf{C}_{aq}$ ) como,

$$\mathbf{C}_{aq} = \mathbf{C}_a + f_{pnc}(\mathbf{C}_{pnc} - \mathbf{C}_a)\mathcal{A}_{pnc}(f_{pnc}\mathcal{A}_{pnc} + f_a\mathbf{I})^{-1} \quad (22)$$

sendo,  $\mathbf{C}_{pnc}$  o tensor de rigidez isotrópico das proteínas não colagenosas, definido pela equação (4),  $f_{pnc}$  a fração volumétrica de todas as inclusões de proteínas não colagenosas,  $\mathbf{C}_a$  o tensor de rigidez isotrópico da água, definido pela equação (3),  $f_a$  a fração volumétrica da água,  $\mathbf{I}$  o tensor identidade de quarta ordem e  $\mathcal{A}_{pnc}$  o tensor de influência para uma inclusão de proteínas não colagenosas.

O seu tensor de influência para uma inclusão é escrito como,

$$\mathcal{A}_{pnc} = [\mathbf{I} + \mathbf{E}_e^a \mathbf{C}_a^{-1}(\mathbf{C}_{pnc} - \mathbf{C}_a)]^{-1} \quad (23)$$

sendo,  $\mathbf{E}_e^a$  o tensor de Eshelby para inclusões esféricas em uma matriz de água.

Como ambos os materiais são considerados isotrópicos, conforme definido na seção 3.2.3, e as inclusões são consideradas esféricas, o tensor de Eshelby torna-se mais simples de ser calculado, possuindo inclusive solução analítica (MURA, 1993).

Na segunda homogeneização, o meio aquoso é tratado como inclusões de formato elipsoidal dentro de uma matriz de fibras de colágeno (HAMED, LEE *et al.*, 2010). As fibras de colágeno são consideradas um material transversalmente isotrópico, com seu tensor de rigidez definido pela equação (2).

Aplicando-se o método de Mori-Tanaka, definido na seção 3.5, pode-se escrever o tensor de rigidez para as fibras de colágeno úmidas ( $\mathbf{C}_{col}$ ) como,

$$\mathbf{C}_{col} = \mathbf{C}_c + f_{aq}^f (\mathbf{C}_{aq} - \mathbf{C}_c) \mathcal{A}_{aq} (f_{aq}^f \mathcal{A}_{aq} + f_c \mathbf{I})^{-1} \quad (24)$$

sendo,  $\mathbf{C}_{aq}$  o tensor de rigidez efetivo do meio aquoso,  $f_{aq}^f$  a fração volumétrica de todas as inclusões constituída pelo meio aquoso,  $\mathbf{C}_c$  o tensor de rigidez das fibras de colágeno,  $f_c$  a fração volumétrica das fibras de colágeno,  $\mathbf{I}$  o tensor identidade de quarta ordem e  $\mathcal{A}_{aq}$  o tensor de influência para uma inclusão constituída pelo meio aquoso.

O seu tensor de influência para uma inclusão é escrito como,

$$\mathcal{A}_{aq} = [\mathbf{I} + \mathbf{E}^c \mathbf{C}_c^{-1} (\mathbf{C}_{aq} - \mathbf{C}_c)]^{-1} \quad (25)$$

sendo,  $\mathbf{E}^c$  o tensor de Eshelby para inclusões elipsoidais em uma matriz de colágeno.

Nessa segunda homogeneização, devido ao fato do tensor de rigidez do meio aquoso ser anisotrópico, o tensor de Eshelby deve ser calculado utilizando-se algum procedimento de integração numérica, como por exemplo, de acordo com a equação (20).

#### 4.4.2. SUPERNANOESCALA: FIBRAS DE COLÁGENO MINERALIZADAS

A supernanoescala é considerada o primeiro dos dois níveis intermediários existentes entre a nano e a microescala. Nesse nível é possível distinguir entre duas estruturas compósitas distintas: fibras de colágeno mineralizadas, compostas por fibras de colágenos úmidas envoltas por uma matriz de hidroxiapatita, chamada de hidroxiapatita interfibrilar (NIKOLOV e RAABE, 2008), e hidroxiapatita extrafibrilar úmida, composta por hidroxiapatita, chamada de hidroxiapatita extrafibrilar, com inclusões de água com proteínas não colagenosas, substância denominada neste trabalho de meio aquoso. Um esquema dos constituintes e da montagem dos compósitos para a homogeneização é mostrada na Figura 27.

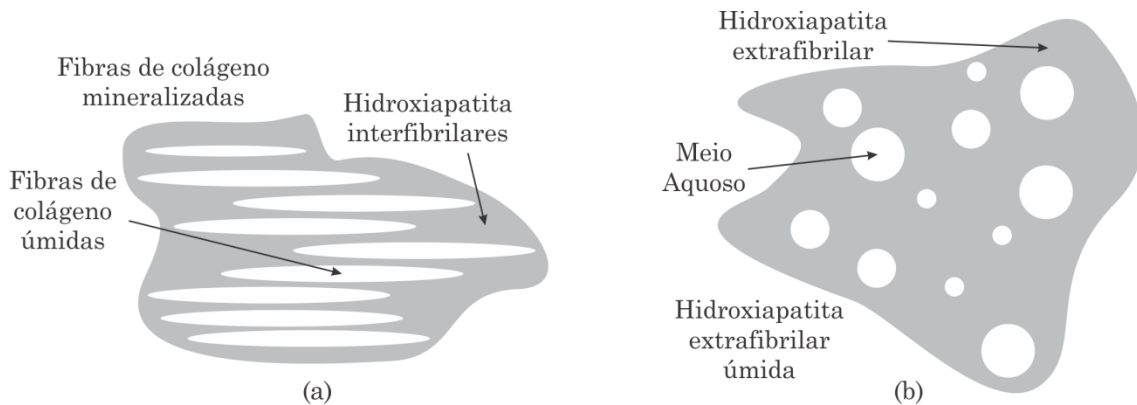


FIGURA 27 – COMPÓSITOS E SUA MONTAGEM PARA A SUPERNANOESCALA, (a) FIBRAS DE COLÁGENO MINERALIZADAS, (b) HIDROXIAPATITA EXTRAFIBRILAR ÚMIDA.

A hidroxiapatita tanto fibrilar quanto extrafibrilar é o mesmo material, apenas diferenciado pela sua localização e atuação. A fibrilar envolve as fibras de colágeno enquanto que a extrafibrilar é formada por uma massa de cristais de hidroxiapatita (PORTER, 2004). Seu tensor de rigidez transversalmente isotrópico é definido pela equação ( 1 ).

Nas fibras de colágeno mineralizadas, as fibras de colágeno úmidas são tratadas como inclusões elipsoidais dentro de uma matriz de hidroxiapatita interfibrilar (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007). Aplicando-se o método de Mori-Tanaka, definido na seção 3.5, pode-se escrever o tensor de rigidez para as fibras de colágeno mineralizadas ( $\mathbf{C}_{fib}$ ) como,

$$\mathbf{C}_{fib} = \mathbf{C}_{hap} + f_{col}(\mathbf{C}_{col} - \mathbf{C}_{hap})\mathcal{A}_{col}(f_{col}\mathcal{A}_{col} + f_{hap}^i\mathbf{I})^{-1} \quad ( 26 )$$

sendo,  $\mathbf{C}_{col}$  o tensor de rigidez anisotrópico das fibras de colágeno úmidas, definido pela equação ( 24 ),  $f_{col}$  a fração volumétrica de todas as inclusões de fibras de colágeno úmidas,  $\mathbf{C}_{hap}$  o tensor de rigidez transversalmente isotrópico da hidroxiapatita, definido pela equação ( 1 ),  $f_{hap}^i$  a fração volumétrica da hidroxiapatita,  $\mathbf{I}$  o tensor identidade de quarta ordem e  $\mathcal{A}_{col}$  o tensor de influência para uma inclusão de fibras de colágeno úmidas.

As frações volumétricas se referem a quantidade existente do material no nível da homogeneização, sendo que a soma das frações das duas fases deve ser igual a 1.

O tensor de influência para uma inclusão é escrito como,

$$\mathcal{A}_{col} = [\mathbf{I} + \mathbf{E}^{hap}\mathbf{C}_{hap}^{-1}(\mathbf{C}_{col} - \mathbf{C}_{hap})]^{-1} \quad ( 27 )$$

sendo,  $\mathbf{E}^{hap}$  o tensor de Eshelby para inclusões elipsoidais em uma matriz de hidroxiapatita interfibrilar. Devido à anisotropia das fibras de colágeno úmidas, o tensor de Eshelby deve ser calculado numericamente.

O segundo compósito desse nível, a hidroxiapatita extrafibrilar úmida, é composto por uma matriz de hidroxiapatita extrafibrilar com inclusões aquosas (meio aquoso) no formato esférico (OLSZTA, CHENG *et al.*, 2007). O tensor de rigidez da hidroxiapatita é definido pela equação ( 1 ).

Aplicando-se o método de Mori-Tanaka, definido na seção 3.5, pode-se escrever o tensor de rigidez da hidroxiapatita extrafibrilar úmidas ( $\mathbf{C}_{next}$ ) como,

$$\mathbf{C}_{next} = \mathbf{C}_{hap} + f_{aq}^e(\mathbf{C}_{aq} - \mathbf{C}_{hap})\mathcal{A}_{aq}^e(f_{aq}^e\mathcal{A}_{aq}^e + f_{hap}^e\mathbf{I})^{-1} \quad ( 28 )$$

sendo,  $\mathbf{C}_{aq}$  o tensor de rigidez efetivo do meio aquoso,  $f_{aq}^e$  a fração volumétrica de todas as inclusões constituída pelo meio aquoso,  $\mathbf{C}_{hap}$  o tensor de rigidez da hidroxiapatita extrafibrilar,  $f_{hap}^e$  a fração volumétrica da hidroxiapatita extrafibrilar,  $\mathbf{I}$  o tensor identidade de quarta ordem e  $\mathcal{A}_{aq}^e$  o tensor de influência para uma inclusão constituída pelo meio aquoso.

O seu tensor de influência para uma inclusão é escrito como,

$$\mathcal{A}_{aq}^e = [\mathbf{I} + \mathbf{E}_e^{hap} \mathbf{C}_{hap} (\mathbf{C}_{aq} - \mathbf{C}_{hap})]^{-1} \quad (29)$$

sendo,  $\mathbf{E}_e^{hap}$  o tensor de Eshelby para inclusões esféricas em uma matriz de hidroxiapatita extrafibrilar.

Novamente, devido à anisotropia do meio aquoso, o tensor de Eshelby deve ser calculado utilizando-se algum procedimento de integração numérica, conforme a equação (20).

#### 4.4.3. SUBMICROESCALA: FIBRAS DE COLÁGENO MINERALIZADAS ENVOLTAS POR UMA MATRIZ DE HIDROXIAPATITA

A submicroescala é o segundo nível intermediário existente entre a nano e a microescala. Nesse nível, as estruturas existentes no nível supernanoescalar juntam-se formando um compósito de duas fases distintas. Essas duas fases são definidas em: hidroxiapatita extrafibrilar úmida (matriz) e fibras de colágeno mineralizadas (inclusões). Esse compósito é denominado de matriz lamelar (SANSALONE, LEMAIRE *et al.*, 2007). Um esquema dos constituintes e da montagem desse compósito para a homogeneização é mostrada na Figura 28. As inclusões de fibras de colágeno mineralizadas são consideradas como possuindo o formato cilíndrico (HAMED, LEE *et al.*, 2010).

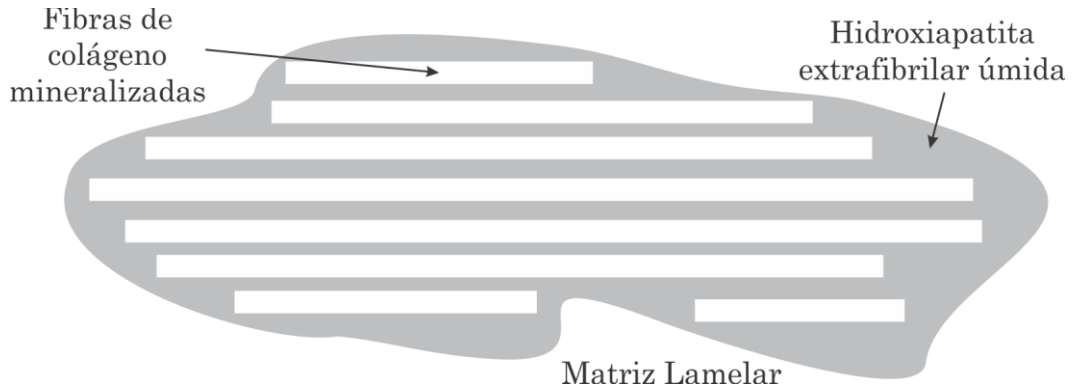


FIGURA 28 – O COMPÓSITO PARA A SUBMICROESCALA – MATRIZ LAMELAR.

Aplicando-se o método de Mori-Tanaka, definido na seção 3.5, pode-se escrever o tensor de rigidez para a matriz lamelar ( $\mathbf{C}_{ml}$ ) como,

$$\mathbf{C}_{ml} = \mathbf{C}_{hext} + f_{fib} (\mathbf{C}_{fib} - \mathbf{C}_{hext}) \mathcal{A}_{fib} (f_{fib} \mathcal{A}_{fib} + f_{hext} \mathbf{I})^{-1} \quad (30)$$

sendo,  $\mathbf{C}_{fib}$  o tensor de rigidez anisotrópico das fibras de colágeno mineralizadas,  $f_{fib}$  a fração volumétrica de todas as inclusões de fibras de colágeno mineralizadas,  $\mathbf{C}_{hext}$  o tensor de rigidez hidroxiapatita extrafibrilar úmida,  $f_{hext}$  a fração volumétrica da hidroxiapatita extrafibrilar úmida,  $\mathbf{I}$  o tensor identidade de quarta

ordem e  $\mathcal{A}_{fib}$  o tensor de influência para uma inclusão de fibras de colágeno mineralizadas.

O seu tensor de influência para uma inclusão é escrito como,

$$\mathcal{A}_{fib} = [I + E\mathbf{C}_{hext}^{-1}(\mathbf{C}_{fib} - \mathbf{C}_{hext})]^{-1} \quad (31)$$

sendo,  $E\mathbf{C}_c^{hext}$  o tensor de Eshelby para inclusões cilíndricas em uma matriz de hidroxiapatita extrafibrilar úmida.

Devido à anisotropia dos tensores de rigidez, o tensor de Eshelby deve ser calculado numericamente.

#### 4.4.4. MICROESCALA: LAMELAS

A microescala, escala onde o tensor de rigidez efetivo do compósito é utilizado na simulação computacional, é composta por uma matriz de matriz lamelar e espaços em formatos similares a um elipsoide, conhecidos como lacunas. Normalmente essas lacunas são preenchidas por osteócitos, células com funções relacionadas ao remodelamento ósseo, portanto, seu tensor constitutivo pode ser definido como idêntico ao do meio aquoso. Esse compósito é denominado de lamela simples (JASIUK e OSTOJA-STARZEWSKI, 2004), e possui o tamanho de um voxel, no caso deste trabalho. Um esquema dos constituintes e da montagem da lamela simples é mostrado na Figura 29.

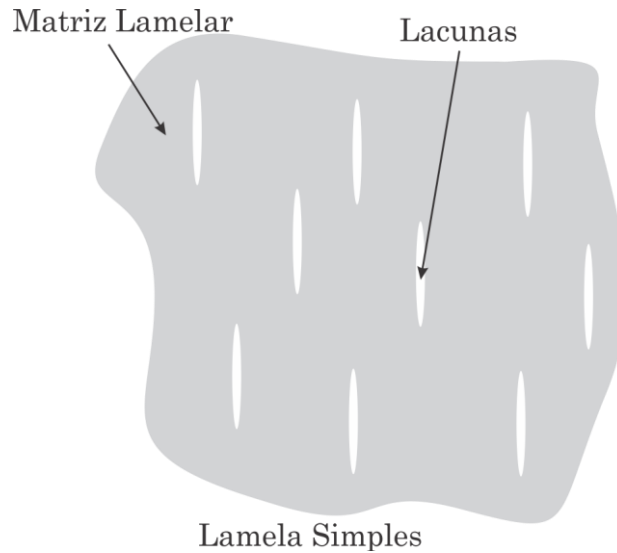


FIGURA 29 – COMPÓSITO DA MICROESCALA – UMA LAMELA SIMPLES.

Aplicando-se o método de Mori-Tanaka, definido na seção 3.5, pode-se escrever o tensor de rigidez para uma lamela simples ( $\mathbf{C}_{lam}$ ) como,

$$\mathbf{C}_{lam} = \mathbf{C}_{ml} + f_{lac}(\mathbf{C}_{lac} - \mathbf{C}_{ml})\mathcal{A}_{lac}(f_{lac}\mathcal{A}_{lac} + f_{ml}\mathbf{I})^{-1} \quad (32)$$

sendo,  $\mathbf{C}_{lac}$  o tensor de rigidez das lacunas,  $f_{lac}$  a fração volumétrica de todas as lacunas,  $\mathbf{C}_{ml}$  o tensor de rigidez da matriz lamelar,  $f_{ml}$  a fração volumétrica da

matriz lamelar,  $I$  o tensor identidade de quarta ordem e  $\mathcal{A}_{lac}$  o tensor de influência para uma lacuna.

O seu tensor de influência para uma inclusão é escrito como,

$$\mathcal{A}_{lac} = [I + \mathbf{E}^{lam} \mathbf{C}_{ml}^{-1} (\mathbf{C}_{lac} - \mathbf{C}_{ml})]^{-1} \quad (33)$$

sendo,  $\mathbf{E}^{lam}$  o tensor de Eshelby para inclusões elipsoidais em uma matriz de matriz lamelar.

Devido à anisotropia dos tensores de rigidez, o tensor de Eshelby deve ser calculado numericamente.

#### 4.4.5. FRAÇÕES VOLUMÉTRICAS

As frações volumétricas utilizadas na equação ( 32 ) são calculadas em função do nível de cinza dos pixels provenientes das fatias tomográficas transversais. As demais frações volumétricas são derivadas das frações a nível lamelar (microescala) através de porcentagens descritas na literatura para cada constituinte elementar (FRITSCH e HELLMICH, 2007; HAMED, LEE *et al.*, 2010).

As lacunas, seu tamanho e sua quantidade em certa parte do tecido ósseo trabecular estão intimamente relacionados com o remodelamento ósseo, sendo diretamente proporcionais à atividade osteoclástica (FRITSCH e HELLMICH, 2007), responsáveis pela reabsorção óssea.

O tamanho das lacunas é variável com diâmetros de aproximadamente 0,1  $\mu\text{m}$  e comprimentos de 1 a 3  $\mu\text{m}$  (JASIUK e OSTOJA-STARZEWSKI, 2004) com formato aproximadamente elipsoidal. A Figura 30 ilustra o formato de uma lacuna.

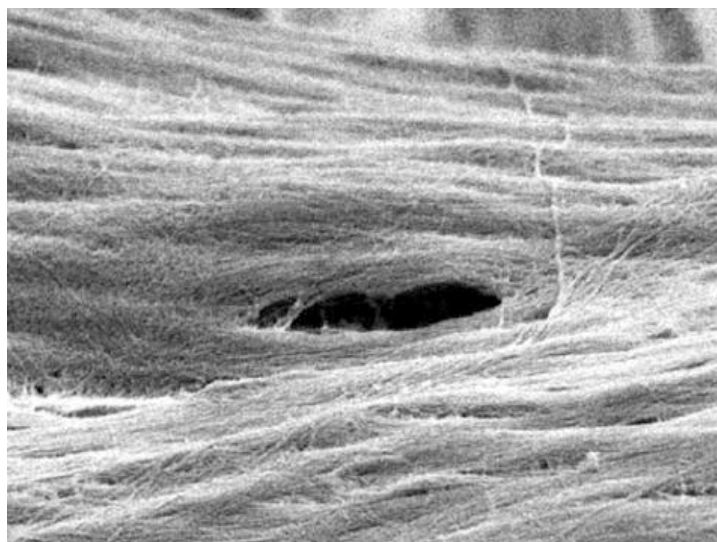


FIGURA 30 – FORMATO DE UMA LACUNA NO OSSO TRABECULAR (JASIUK E OSTOJA-STARZEWSKI, 2004).

Frações dessas lacunas ocorrem dentro de cada voxel (TKACHENKO, SLYFIELD *et al.*, 2009). Essas frações podem ser identificadas pelo valor de cinza das fatias tomográficas transversais. Partindo-se do levantamento da segmentação onde são encontrados os limites inferior e superior dos valores de cinza dentro dos quais existe osso, sabendo-se que a fração de lacunas dentro de um voxel cúbico de tamanho de arestas de aproximadamente 5,0  $\mu\text{m}$  pode variar cerca de 16 % com uma variância de 1,9 % (TKACHENKO, SLYFIELD *et al.*, 2009), pode-se relacionar linearmente de forma aproximada o valor de cinza das imagens tomográficas transversais com a fração volumétrica da matriz lamelar para cada voxel. Essa correlação é ilustrada na Figura 31.

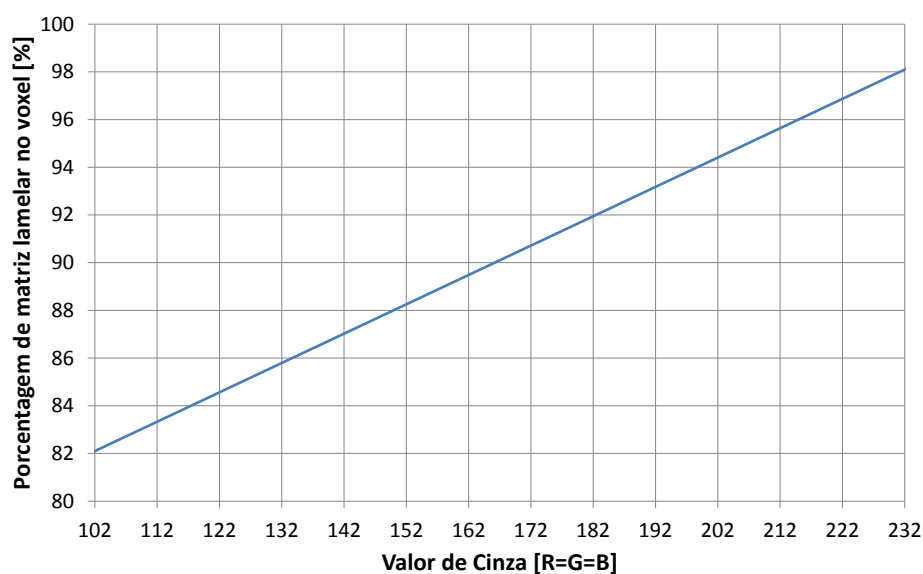


FIGURA 31 – CORRELAÇÃO DO VALOR DE CINZA DO VOXEL E SUA CORRESPONDENTE FRAÇÃO VOLUMÉTRICA DE MATRIZ LAMELAR.

De acordo com Hamed e Lee (HAMED, LEE *et al.*, 2010), as frações volumétricas para cada constituinte elementar do tecido ósseo presentes na matriz lamelar podem ser definidas conforme ilustrado na Tabela 3, mantendo a fração mineral em torno de 50 % (FRITSCH e HELLMICH, 2007).

Constituinte	Fração volumétrica [%]
Colágeno	35
Hidroxiapatita	50
PNC	5
Água	10

TABELA 3 – FRAÇÕES VOLUMÉTRICAS DOS CONSTITUÍNTES ELEMENTARES PARA A MATRIZ LAMELAR (HAMED, LEE *et al.*, 2010).

Do total da hidroxiapatita na matriz lamelar, 25 % são provenientes da hidroxiapatita extrafibrilar e 75 % da hidroxiapatita interfibrilar (HAMED, LEE *et al.*, 2010). Em relação à água e às proteínas não colagenosas (PNC), é definido neste trabalho que: 50 % são provenientes das fibras de colágeno úmidas e 50 % da

hidroxiapatita extrafibrilar úmida; 100 % do colágeno são provenientes das fibras de colágeno úmidas (HAMED, LEE *et al.*, 2010). O fluxograma da Figura 32 mostra o caminho dos constituintes elementares da nanoescala até a microescala, sendo  $f_{ml}$  e  $f_{lac}$  as frações volumétricas da matriz lamelar e das lacunas, respectivamente, dadas pelo gráfico da Figura 31 em função do tom de cinza do pixel.

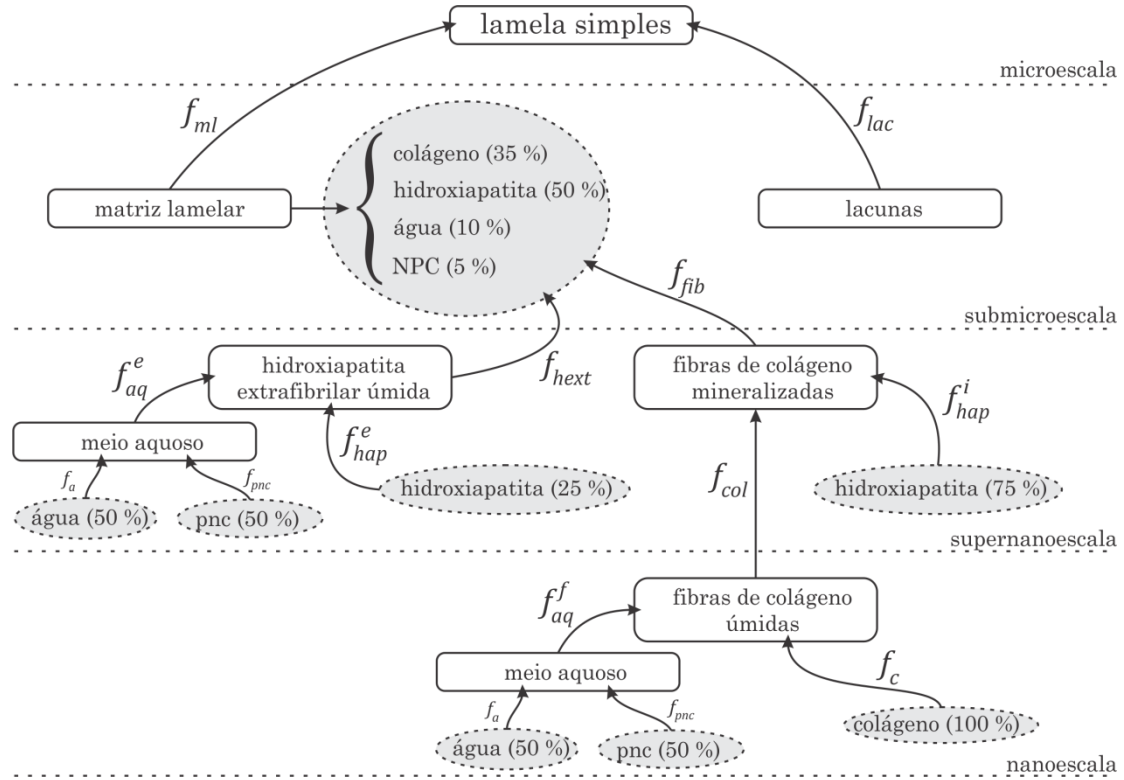


FIGURA 32 – DISTRIBUIÇÃO DOS CONSTITUÍNTES ELEMENTARES ATRAVÉS DAS ESCALAS.

Frações volumétricas	Valor [%]
$f_{fib}$	75
$f_{hext}$	25
$f_{aq}^e$	15
$f_{hap}^e$	85
$f_{col}$	50
$f_{hap}^i$	50
$f_c$	85
$f_{aq}^f$	15
$f_a$	67
$f_{pnc}$	33

TABELA 4 – VALORES DAS FRAÇÕES VOLUMÉTRICAS.

De acordo com a Tabela 3 e a Figura 32, as frações volumétricas  $f_{fib}$ ,  $f_{hext}$ ,  $f_{aq}^e$ ,  $f_{hap}^e$ ,  $f_{col}$ ,  $f_{hap}^i$ ,  $f_c$ ,  $f_{aq}^f$ ,  $f_a$ ,  $f_{pnc}$  são definidas para as fibras de colágeno mineralizadas, matriz de hidroxiapatita úmida, meio aquoso da hidroxiapatita extrafibrilar úmida, hidroxiapatita extrafibrilar, fibras de colágeno úmidas,

hidroxiapatita interfibrilar, fibras de colágeno, meio aquoso das fibras de colágeno úmidas, água e proteínas não colagenosas respectivamente. Esses valores são mostrados na Tabela 4.

Os valores da Tabela 4 são definidos pelo autor visando manter as porcentagens definidas na Tabela 3 para a parte mineral (hidroxiapatita), orgânica (colágeno) e outros constituintes (água e PNC).

#### 4.4.6. DIREÇÕES PRINCIPAIS

A cada nível de homogeneização são escritos tensores anisotrópicos de quarta ordem contínuos, fazendo-se com que as direções principais se mantenham genéricas e constantes durante os passos de homogeneização (HAMED, LEE *et al.*, 2010). A generalização das direções é obtida com a especificação das mesmas direções principais para os constituintes elementares, colágeno, hidroxiapatita, água e as proteínas não colagenosas e, como ambas as últimas são isotrópicas, as direções não são relevantes inicialmente.

O colágeno e a hidroxiapatita são elementos que, pelo seu formato, fibra e cristal alongado, possuem uma direção principal específica a qual, neste trabalho, é definida como idêntica para ambos os elementos em todos os passos de homogeneização que se utilize de seus tensores de rigidez elementar, dados pelas equações ( 2 ) e ( 1 ) respectivamente, como na nanoescala e na supernanoescala.

A consideração de que a matriz é um meio anisotrópico contínuo é feita sob dois argumentos principais: o primeiro vem o fato das moléculas de colágeno (formato de hélice tripla) serem conectadas através de ligações cruzadas, o que garante a continuidade na estrutura (BUEHLER, 2006); o segundo vem da suposição adotada de que os cristais de hidroxiapatita têm forma compacta e aderem fortemente à superfície das fibras, o que novamente irá garantir o uso da matriz contínua e a aplicação do método de Mori-Tanaka no processo de obtenção do tensor de rigidez equivalente (HAMED, LEE *et al.*, 2010).

A generalização das direções principais, baseada nas direções equivalentes para os constituintes elementares, é existente nos níveis nanoescalar, supernanoescalar e submicroescalar. No nível microescalar, onde existe matriz lamelar com vazios conhecidos como lacunas, uma diferente suposição é adotada para os eixos locais de cada lamela, representada por um voxel.

O tensor de rigidez equivalente obtido para esse nível, para cada lamela, têm suas direções genéricas, conforme exposto. No entanto, essas direções genéricas, ou seja, o eixo de coordenadas local de cada lamela precisa ser definido e rotacionado de forma a ser equivalente ao eixo global de toda a estrutura, para o cálculo da matriz de rigidez global e a obtenção de uma solução consistente para o modelo estrutural.

A definição do eixo local de cada lamela ou voxel é feita de acordo com a posição que o voxel se encontra dentro da estrutura e em função da normal à

superfície externa da trabécula definida pela normal do triângulo de superfície escrita no arquivo STL (Figura 20 e Figura 33).

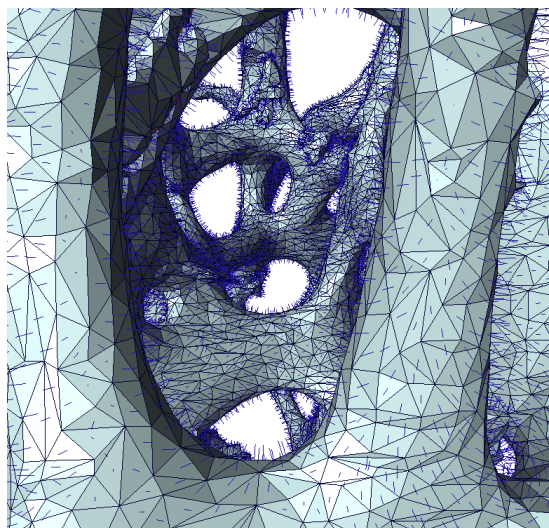


FIGURA 33 – VISUALIZAÇÃO DAS NORMAIS DOS TRIÂNGULOS DE SUPERFÍCIE DO STL.

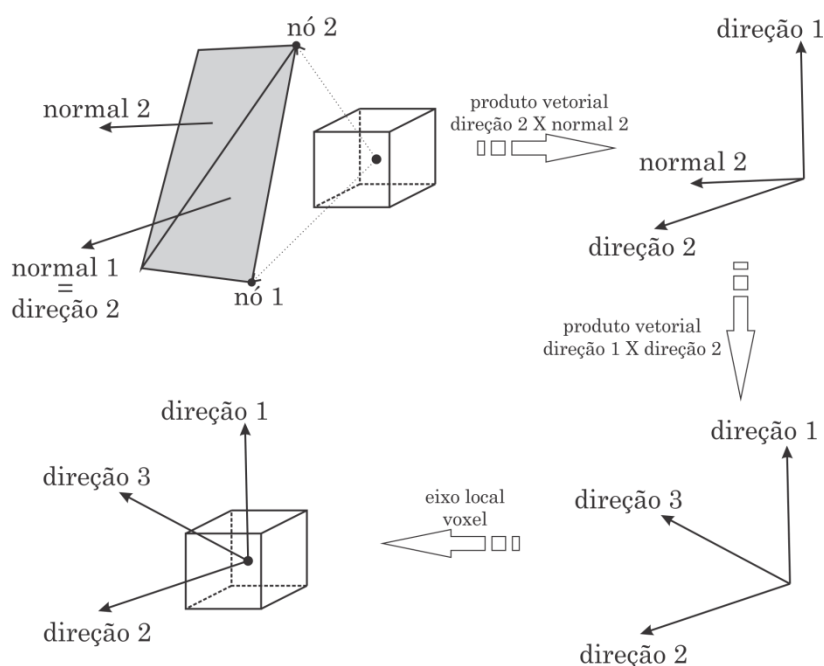


FIGURA 34 – PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DAS DIREÇÕES LOCAIS DE CADA VOXEL.

Partindo-se das coordenadas do centro do voxel, são procuradas coordenadas de dois vértices de triângulos da superfície, dentro do arquivo STL, que estejam mais próximos do referido voxel, os quais identificarão os triângulos nos quais as respectivas normais serão utilizadas na definição do sistema de coordenadas local.

Após a obtenção de dois triângulos distintos com vértices o mais próximo possível do centro do voxel em questão, é definido como uma das direções locais,

direção 2 do voxel, a normal do primeiro triângulo encontrado. Em seguida, um produto vetorial das normais de ambos os triângulos indicará a direção da trabécula, que será denominada de direção 1 do voxel. E por fim, a direção 3 é encontrada com um produto vetorial das normais da direção 1 e 2. Esse procedimento é ilustrado pela Figura 34.

O tensor equivalente do voxel é admitido como tendo essas direções locais e um procedimento de transformação de coordenadas do tensor de quarta ordem, dado pela equação ( 34 ), é utilizado para se obter o tensor de rigidez equivalente do voxel escrito nas direções globais da trabécula (LAI, RUBIN *et al.*, 2010).

$$C'_{ijkl} = Q_{mi}Q_{nj}Q_{rk}Q_{sl}C_{mnrs} \quad ( 34 )$$

sendo,  $C_{mnrs}$  o tensor de rigidez equivalente do voxel obtido pelo processo de homogeneização de Mori-Tanaka para o último nível hierárquico, microescala,  $Q_{ij}$  a matriz dos cossenos diretores (matriz de transformação entre os eixos locais e os globais) e  $C'_{ijkl}$  o tensor de rigidez equivalente do voxel nas direções globais.

#### 4.4.7. TENSOR DE RIGIDEZ ANISOTRÓPICO DE CADA ELEMENTO

O tensor de rigidez anisotrópico de cada elemento é calculado utilizando-se a aproximação de Voigt (MURA, 1993), conforme exposto na seção 3.5. O tensor de rigidez de cada elemento ( $C_{elem}$ ) é calculado a partir dos tensores de rigidez calculados para cada voxel representativo de osso ( $C_{vox}^i$ ), baseando-se nas frações volumétricas de cada voxel ( $f_{vox}^i$ ) presentes dentro do elemento pelo seu respectivo tensor de rigidez, conforme ilustra a equação ( 35 ).

$$C_{elem} = \sum_{i=1}^{n_{ve}} f_{vox}^i C_{vox}^i \quad ( 35 )$$

sendo,  $n_{ve}$  o número total de voxels dentro do elemento em questão. Após feito o levantamento de quais voxels estão presentes do interior de cada elemento, o método de homogeneização aproximado Voigt é aplicado para a obtenção do tensor de rigidez de cada elemento. A Figura 35 ilustra essa proposição.

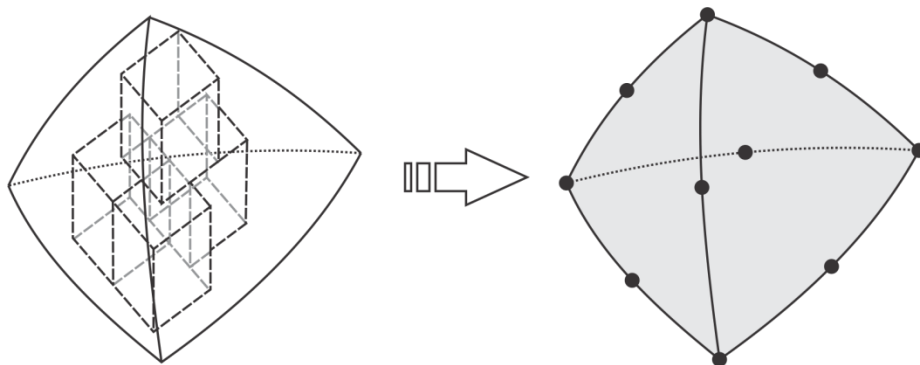


FIGURA 35 – ILUSTRAÇÃO DO ESQUEMA DE HOMOGENEIZAÇÃO DO ELEMENTO EM FUNÇÃO DOS VOXELS PRESENTES NO SEU INTERIOR.

As frações volumétricas de cada voxel nada mais são que o próprio volume de cada voxel, que, por possuir formato cúbico com arestas definidas em  $5,25 \mu\text{m}$  (função dos parâmetros da microtomografia), tem um volume total de  $144,70 \mu\text{m}^3$ . A soma de todas as frações volumétricas de todos os voxels constantes dentro de certo elemento deve ser igual ou aproximadamente igual ao volume do elemento.

## 4.5. SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL

O objetivo da simulação computacional é obter a curva força por deslocamento do modelo de elementos finitos das amostras de osso trabecular a partir das propriedades de seus constituintes elementares função de frações volumétricas, obtidas na microescala, para lamelas e lacunas. Para tal, as propriedades calculadas através dos processos de homogeneização descritos no item 4.4 devem ser avaliadas para cada elemento do modelo.

Um tensor efetivo em microescala, representativo de uma lamela simples, é associado a cada voxel do modelo geométrico tridimensional. Esse tensor é calculado função da metodologia de homogeneização na multiescala descrita na seção 4.4 e de acordo com as frações volumétricas definidas pelo seu valor de cinza, proveniente da fatia tomográfica transversal.

Em seguida são determinados quais são os voxels que estão presentes no interior de cada elemento do modelo discretizado. Uma simples homogeneização das propriedades de cada voxel, utilizando-se o esquema de homogeneização aproximado de Voigt, conforme definido na seção 3.5, é feita para o cálculo do tensor de rigidez anisotrópico de cada elemento.

O modelo de elementos finitos é resolvido aplicando-se cargas concentradas nos nós superiores do modelo da amostra de osso, acoplando-se os deslocamentos dos nós da superfície superior para que tenham igual deslocamento (nós com carga aplicada) e condições de contorno, engastamentos nos nós inferiores, para a simulação do ensaio mecânico físico e obtenção da curva força por deslocamento computacional.

Um aplicativo em python, dividido em módulos, foi desenvolvido para esses procedimentos. O resultado final desse algoritmo é a simulação computacional do ensaio físico feito através do método dos elementos finitos. Os módulos são: Módulo 1: tensor de rigidez anisotrópico de cada voxel; Módulo 2: localização dos voxels por elementos; Módulo 3: tensor de rigidez anisotrópico de cada elemento; Módulo 4: simulação computacional em elementos finitos (ZIENKIEWICZ e TAYLOR, 2005; BELYTSCHKO e FISH, 2007).

No módulo 1, tensor de rigidez do voxel, é implementada a metodologia de homogeneização proposta no item 4.4, o qual retorna o tensor constitutivo de cada voxel, que representa uma lamela simples. O módulo 1 é dividido em diversos submódulos cada um responsável por resolver uma parte do problema, sendo um responsável pelo tensor de Eshelby, outro por calcular as coordenadas e os pesos de

Gauss para a integração numérica, outro para calcular os tensores de influência e o principal por calcular os tensores de rigidez.

O módulo 2 tem como função descobrir quais voxels estão dentro e quais estão fora de cada elemento obtido da geração da malha de elementos finitos. Para tal, são calculadas as coordenadas baricêntricas do centro geométrico de cada voxel em relação ao tetraedro representativo do elemento, avaliando-se, ao final, o sinal resultante, sendo que se todas as coordenadas forem positivas, o centro geométrico do voxel está constante dentro do tetraedro e assim o voxel é considerado também constante dentro do elemento.

No módulo 3 é implementado o método aproximado de Voigt para a homogeneização do elemento em função do material idealizado constituído de voxels.

Por fim, no módulo 4 são agregadas as informações geradas nos módulos anteriores, associadas às informações obtidas com a geração e conversão da malha de elementos finitos (gerada pelo Amira®) em elementos quadráticos (aplicativo em python) e calculado o gráfico de força por deslocamento através da resolução de uma análise de elementos finitos (ZIENKIEWICZ e TAYLOR, 2005).

A Figura 36 ilustra o fluxograma do algoritmo implementado em python para a geração do modelo computacional de elementos finitos.

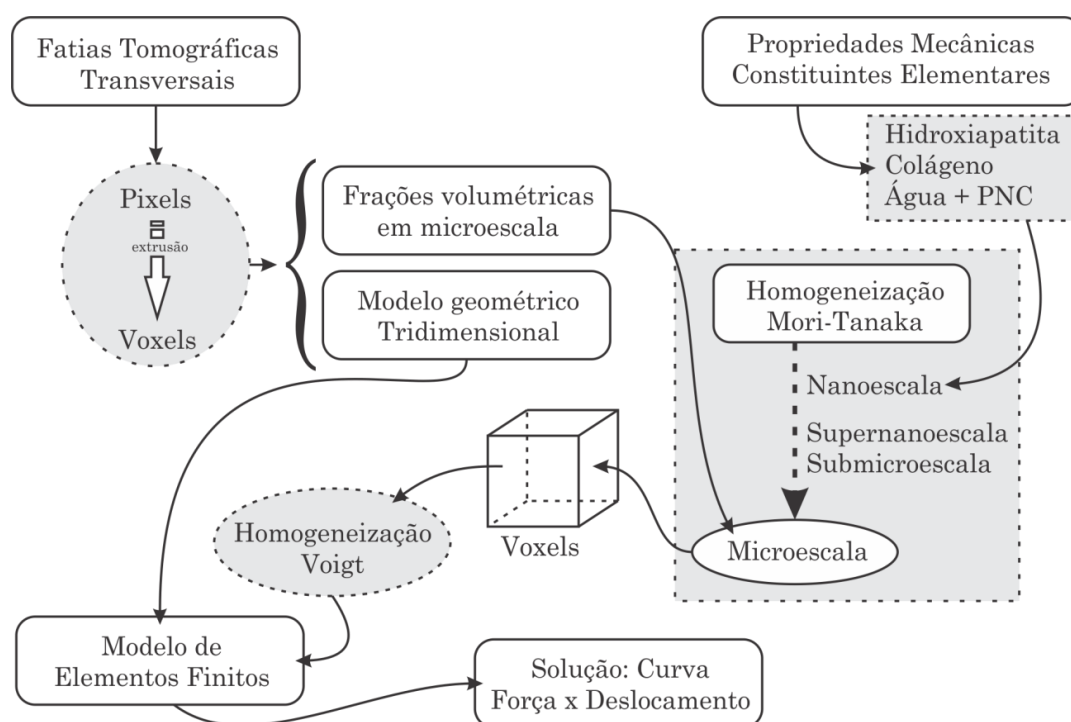


FIGURA 36 – FLUXOGRAMA DE GERAÇÃO DO MODELO DE ELEMENTOS FINITOS.

O algoritmo é escrito em linguagem python pela facilidade de implementação oferecida pela linguagem e consequente produtividade. Após a

resolução da simulação e obtenção do gráfico de força por deslocamento, inicia-se a avaliação e comparação dos resultados com os ensaios mecânicos físicos.

O cálculo dos módulos de elasticidade tanto para os ensaios físicos quanto para os resultados das simulações computacionais são feitos de acordo com as inclinações obtidas, para o regime linear, das curvas força por deslocamento, em função da altura total da amostra e da área de acordo com a equação ( 36 ).

$$E = I_{FD} \frac{h}{A} \quad ( 36 )$$

sendo,  $I_{FD}$  a inclinação do regime elástico dos gráficos de força por deslocamento,  $h$  a altura total das amostras (13 mm),  $A$  a área e  $E$  o módulo de elasticidade da amostra.

A área de aplicação de força para o cálculo da tensão é calculada a partir de um polígono irregular convexo definido pelas coordenadas x e y dos nós que tenham força aplicada, aplicando-se de uma forma simples um algoritmo (fonte: <http://python.net/~gherman/convexhull.html>) desenvolvido por Dinu Gherman, que computa o convex hull de uma nuvem de pontos bidimensionais (KREIN e SMULIAN, 1940; PREPARATA e HONG, 1977).

Convex hull é um termo utilizado em processamento de geometrias computacionais para um método que computa um polígono convexo encontrando os pontos limites de uma nuvem de pontos.

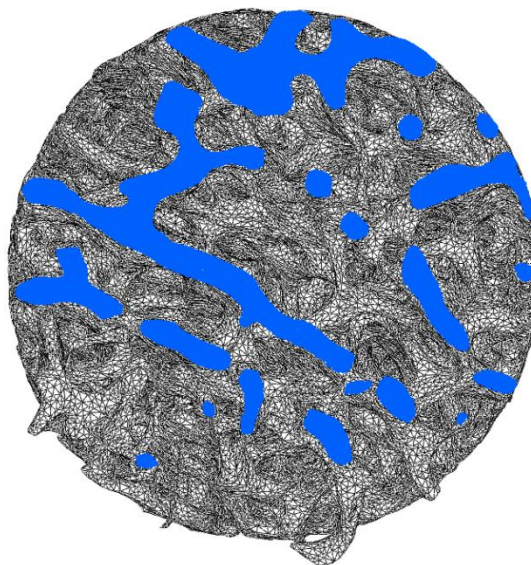


FIGURA 37 – SELEÇÃO DOS NÓS SUPERIORES COM CARREGAMENTO PARA CÁLCULO DA ÁREA DE CONTATO.

A Figura 37 ilustra os nós da face superior que contém força aplicada e são selecionados para o cálculo da área de contato inicial. A cada conjunto de pontos representando um polígono convexo presente na seleção é aplicado o método convex hull. O método é utilizado para a determinação dos pontos limites para a descrição

do polígono para posterior cálculo da área, sendo a área total a soma das áreas de todos os polígonos. As áreas das amostras T1, T2 e T3 são respectivamente 2,062 mm<sup>2</sup>, 2,749 mm<sup>2</sup> e 2,356 mm<sup>2</sup>. Essas áreas são utilizadas para a distribuição da carga de 150 N do modelo computacional na superfície carregada.

## 5. PROCEDIMENTOS E RESULTADOS

Foi utilizado um total de três amostras de osso trabecular, conformadas com uma broca trefina em formato cilíndrico de 5 mm de diâmetro por 13 mm de altura, com as extremidades mantidas em paralelo (disco de corte diamantado), limpas com o auxílio de um aparelho de ultrassom e mantidas em solução de cloreto de sódio a 0,9 % durante os intervalos entre os procedimentos. A Figura 38 ilustra uma visualização das três amostras prontas para os procedimentos, a Figura 39 mostra uma visualização dessas amostras com ampliação de 10x.



FIGURA 38 – AMOSTRAS DE OSSO TRABECULAR USADAS.

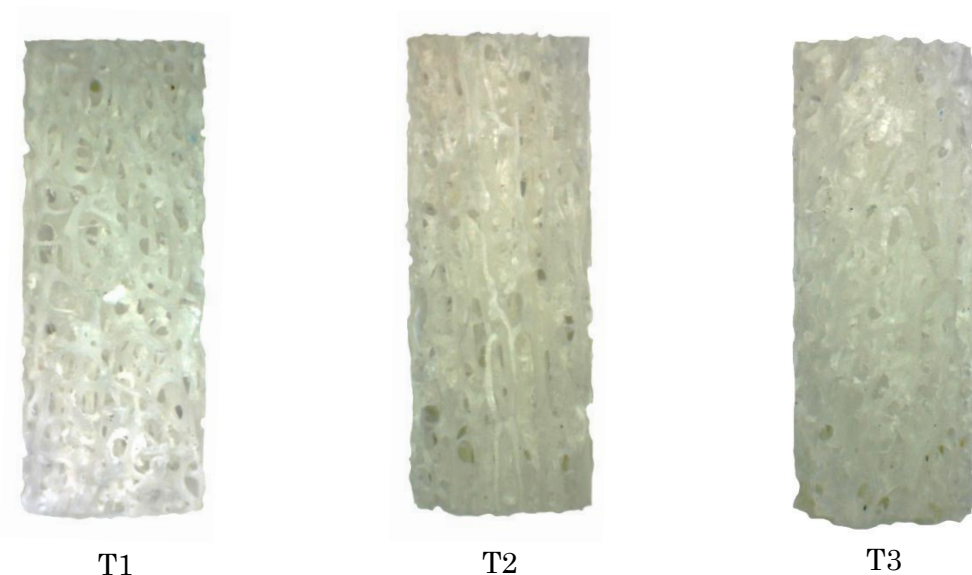


FIGURA 39 – AMOSTRAS T1, T2 E T3 DE OSSO TRABECULAR VISTAS COM AMPLIAÇÃO DE 10X.

Após o preparo, as amostras foram submetidas primeiramente à microtomografia utilizando o microtomógrafo SkyScan 1172 de alta resolução (SKYSCAN®, Kontich - Bélgica) de acordo com os parâmetros definidos na seção 4.2.

O tempo de aquisição (imagens de raios-X) e reconstrução (algoritmo de Feldkamp), a quantidade, características e o tamanho das imagens resultantes para cada amostra são mostrados na Tabela 5.

	T1	T2	T3
Tempo Aquisição	2 hs 53 min 20 s	2 hs 53 min 20 s	2 hs 53 min 20 s
Tempo Reconstrução	32 min 5 s	32 min 26 s	32 min 30 s
Quantidade de fatias tomográficas	2572	2554	2580
Resolução	1360 x 1360	1360 x 1360	1360 x 1360
Tamanho do pixel	5,25012 $\mu\text{m}$	5,25012 $\mu\text{m}$	5,25012 $\mu\text{m}$
Tamanho de cada imagem	1,76 MB	1,76 MB	1,76 MB
Espaço em disco total	4,42 GB	4,44 GB	4,81 GB

TABELA 5 – DADOS DA AQUISIÇÃO E RECONSTRUÇÃO MICROTOMOGRÁFICA.

Em seguida a aquisição, as amostras são submetidas a um ensaio de compressão, conforme exposto na seção 4.3.

## 5.1. ENSAIOS MECÂNICOS DAS AMOSTRAS DE TECIDO ÓSSEO TRABECULAR

As amostras de osso são posicionadas centralizadas no estágio de carga da Máquina Universal de Ensaios DL 10.000 EMIC (EMIC – Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda.) para a execução dos testes de compressão, conforme ilustra a Figura 24. Os testes são executados até a ruptura dos corpos de prova.

Os resultados obtidos dos ensaios, as curvas de força por deslocamento, para as amostras T1, T2 e T3 são mostrados na Figura 40, Figura 41 e Figura 42, respectivamente.

As curvas iniciam-se e permanecem no zero por um considerável valor de deslocamentos pelo fato da mesa superior do equipamento de ensaios estar posicionada logo acima da parte superior da amostra sem, no entanto, existir o contato inicial, o que garante que a carga de reação inicial do ensaio seja igual a zero. Após os testes, os restos das amostras são embalados em material plástico tipo lixo hospitalar, sendo devolvidas ao hospital de origem para destinação adequada. Comentários sobre os resultados são feitos na discussão do trabalho.

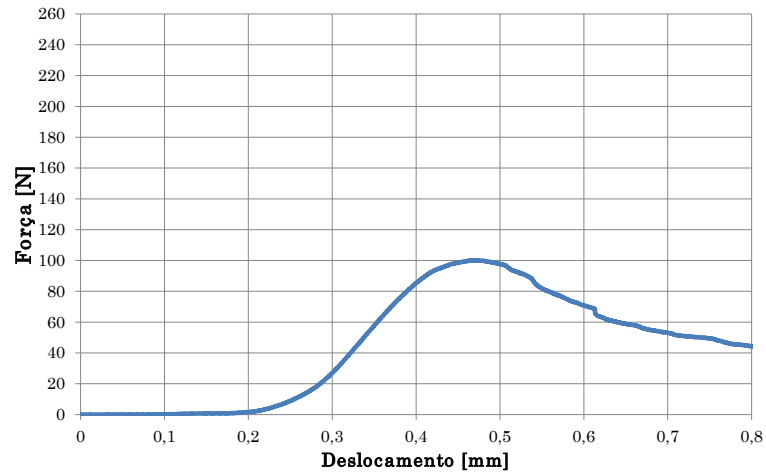


FIGURA 40 – GRÁFICO FORÇA X DESLOCAMENTO PARA A AMOSTRA T1, ENSAIO MECÂNICO.

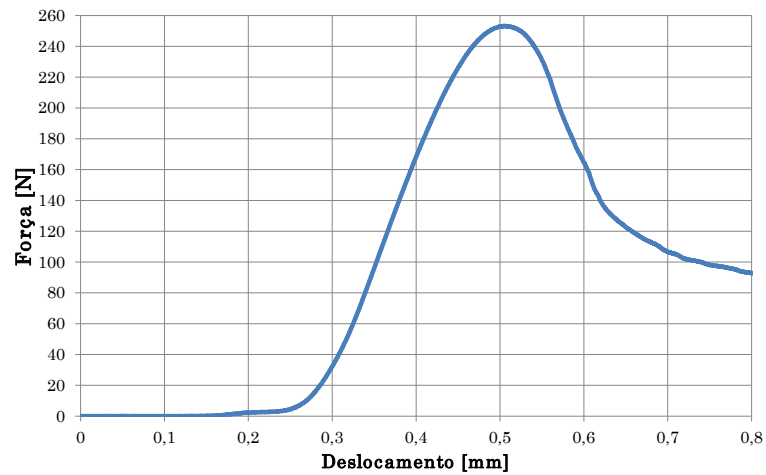


FIGURA 41 – GRÁFICO FORÇA X DESLOCAMENTO PARA A AMOSTRA T2, ENSAIO MECÂNICO.

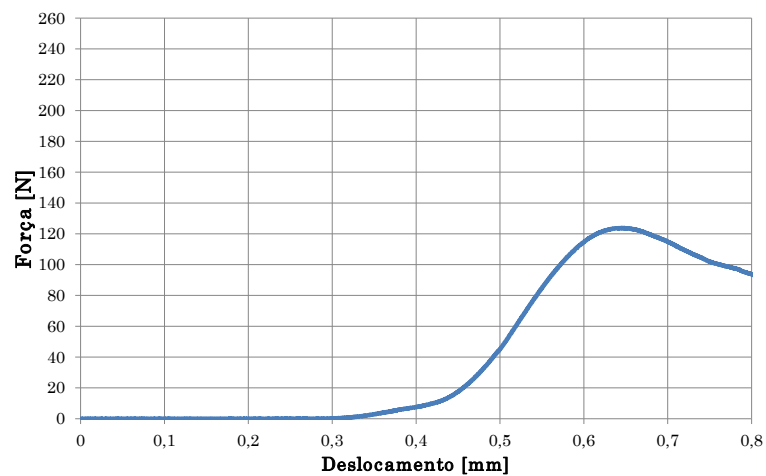


FIGURA 42 – GRÁFICO FORÇA X DESLOCAMENTO PARA A AMOSTRA T3, ENSAIO MECÂNICO.

## 5.2. MODELO DE ELEMENTOS FINITOS

A partir das fatias tomográficas reconstruídas ilustradas digitalmente por imagens em tons de cinza é construída a geometria tridimensional de cada amostra, discretizando as superfícies da amostra em triângulos no formato STL, de acordo com o processo de segmentação e geração do modelo geométrico representativo tridimensional explanado na seção 4.2.2. Os dados dos STLs resultantes para cada amostra são mostrados na Tabela 6. Os STLs com a geometria tridimensional das trabéculas são mostrados na Figura 43.

	T1	T2	T3
Tamanho do STL	111,7 MB	127,6 MB	118,3 MB
Número de pontos	1.200.755	1.303.743	1.209.606
Número de faces	2.405.745	2.612.732	2.423.590

TABELA 6 – PROPRIEDADES DOS ARQUIVOS STL REPRESENTATIVOS DA GEOMETRIA TRIDIMENSIONAL DAS AMOSTRAS.

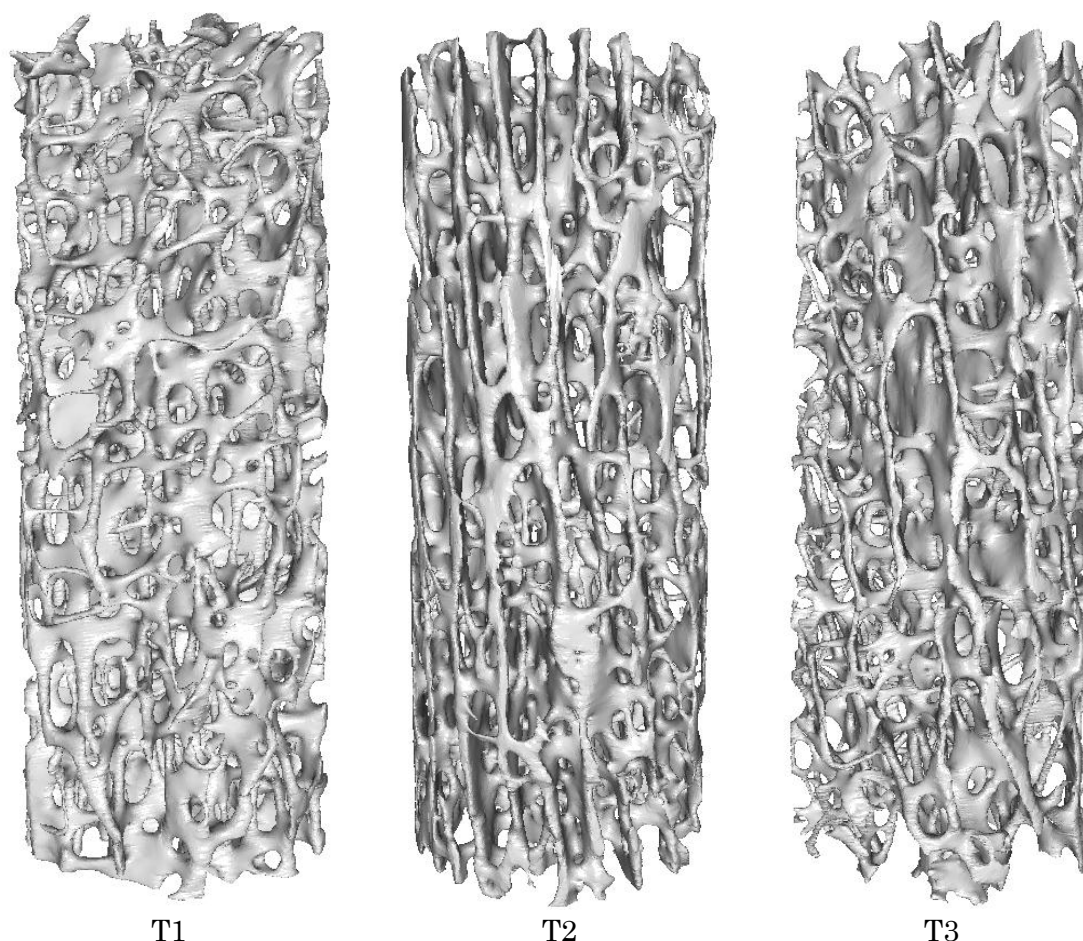


FIGURA 43 – GEOMETRIAS TRIDIMENSIONAIS DAS AMOSTRAS T1, T2 E T3 DE OSSO TRABECULAR (VISTA PERSPECTIVA).

O passo seguinte é a geração de uma malha de elementos finitos a partir dessa geometria tridimensional. O software Amira® foi utilizado para essa geração.

Primeiramente, o arquivo em STL gerado pelo ScanIP foi importado para o software e automaticamente reconhecido como uma superfície. Em seguida, foi executada uma simplificação da superfície, chegando a um número de aproximadamente 800.000 faces (redução em torno de 30x). Esse procedimento é necessário devido à precisão desnecessária utilizada pelo ScanIP. Se fosse mantido o valor original, a malha de elementos finitos gerada seria extremamente grande, inviabilizando a sua resolução. E, mesmo com a redução, inicialmente de forma aparente, a geometria se manteve muito próxima a original.

Antes da geração da malha de elementos finitos em elementos tetraédricos é preciso analisar a qualidade dos triângulos gerados após a simplificação das faces. Foram utilizados testes de intersecção de triângulos, testes de continuidade, de ângulos diedros e da presença de buracos, executados no próprio Amira®.

Depois de verificada a qualidade dos triângulos que descrevem a superfície, a malha de tetraedros foi criada e a coordenadas dos nós e incidência dos elementos foi exportada em um arquivo de texto.

Uma comparação entre as coordenadas dos nós dos elementos finitos gerados e as coordenadas dos vértices dos triângulos do STL original (antes da simplificação das faces), mostrou que a malha descreve de maneira satisfatória a geometria tridimensional das amostras. Essa comparação se baseou no fato de que as coordenadas dos nós dos elementos finitos mais externos, os quais descrevem a superfície externa das trabéculas, não devem estar a uma distância maior que 10 % do tamanho do lado do pixel (0,525  $\mu\text{m}$ ) da superfície respectiva descrita pelos triângulos do STL original. Isso garante uma precisão tanto da malha de elementos finitos em relação à geometria original real das amostras, quanto da assimilação de corretas propriedades mecânicas provindas de cada voxel das fatias tomográficas transversais. Para tal verificação, um aplicativo em python foi escrito para ler a superfície do STL e comparar com as coordenadas dos nós dos elementos finitos próximos a ela, identificando a direção da normal externa da superfície e verificado se existem nós naquela direção.

As propriedades das malhas de elementos finitos das amostras T1, T2 e T3 são mostradas na Tabela 7. As malhas de elementos finitos são mostradas na Figura 44.

	T1	T2	T3
Tamanho do arquivo da malha	561 MB	547 MB	557 MB
Número de nós	5.415.234	5.051.599	5.324.874
Graus de liberdade	16.245.702	15.154.797	15.974.622
Número de elementos	3.431.572	3.134.052	3.350.539

TABELA 7 – PROPRIEDADES DAS MALHAS DE ELEMENTOS FINITOS.

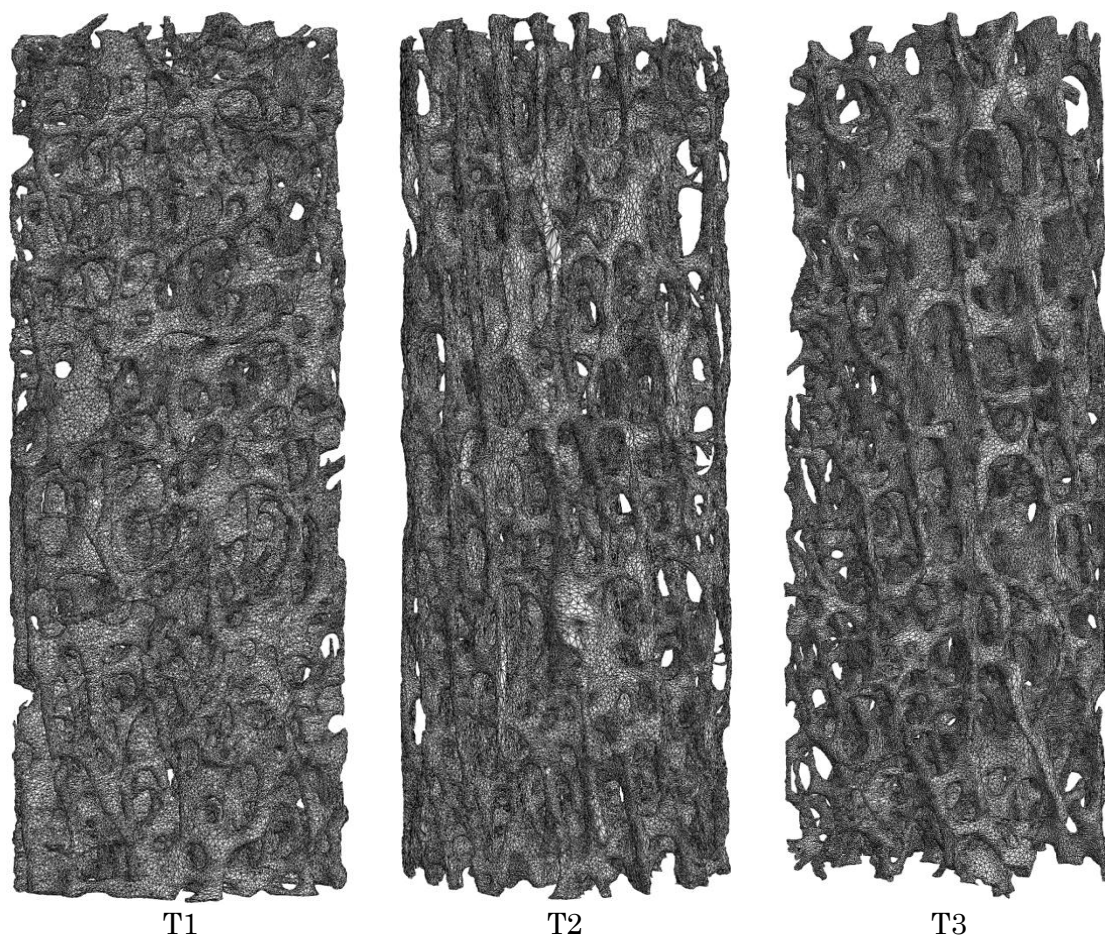


FIGURA 44 – MALHAS DE ELEMENTOS FINITOS DAS AMOSTRAS T1, T2 E T3 DE OSSO TRABECULAR (VISTA ORTOGONAL).

Após a geração da malha de elementos finitos, processo que durou em média, contando apenas o tempo de geração sem o tempo de manipulação pelo usuário, 3 hs, um aplicativo em python foi executado para fazer o levantamento de quais voxels das fatias tomográficas transversais estão presentes dentro de quais elementos finitos da malha, para que seja possível determinar o tensor de rigidez do elemento.

Esse foi o processo mais demorado entre todos os realizados neste trabalho. O fato de serem aproximadamente 1.300.000.000 voxels representativos de osso em cada amostra e malha em torno de 3.300.000 elementos finitos, essa varredura demorou em torno de 10 dias para cada amostra, utilizando-se um computador com 3,0 GHz de frequência de processamento e 24 GB de memória RAM.

Em seguida a esse levantamento, foram calculados para cada elemento os tensores de rigidez, de acordo com a aproximação de Voigt, seção 4.4.7, para as três amostras contendo todas essas informações para a execução da simulação mecânica computacional. O segundo procedimento mais demorado foi o cálculo dos tensores de rigidez de cada voxel em função do seu respectivo valor de cinza, sendo em torno de 31 hs para cada amostra executado em um computador análogo ao procedimento anterior.

Como cada amostra tem em torno de 3.300.000 de elementos e cada elemento recebe um tensor anisotrópico de rigidez, tem-se aproximadamente 3.300.000 tensores de rigidez em cada análise, ou seja, a análise de elementos finitos envolve o equivalente a 3.300.000 materiais diferentes. A resolução para obtenção das curvas de força por deslocamento computacionais levou cerca de três dias para cada amostra e somente foi possível através do sistema operacional Linux Ubuntu 10.04 LTS (Lucid Lynx) (<http://www.ubuntu-br.org/>), executando-se com técnicas de descarrego de memória repetidas vezes para o HD.

Aos nós situados na extremidade superior do modelo foram aplicadas cargas concentradas representativas de uma carga total de 150 N, e nos nós inferiores foram aplicadas restrições em todos os graus de liberdade, caracterizando um engastamento. A Figura 45 ilustra um esquema do carregamento e dos apoios.



FIGURA 45 – ESQUEMA ILUSTRATIVO DOS CARREGAMENTOS E DOS APOIOS (CONDIÇÕES DE CONTORNO) APLICADOS AO MODELO COMPUTACIONAL.

Os resultados obtidos da simulação computacional, as curvas de força por deslocamento, para as amostras T1, T2 e T3 são apresentados na Figura 46, Figura 47 e Figura 48, respectivamente.

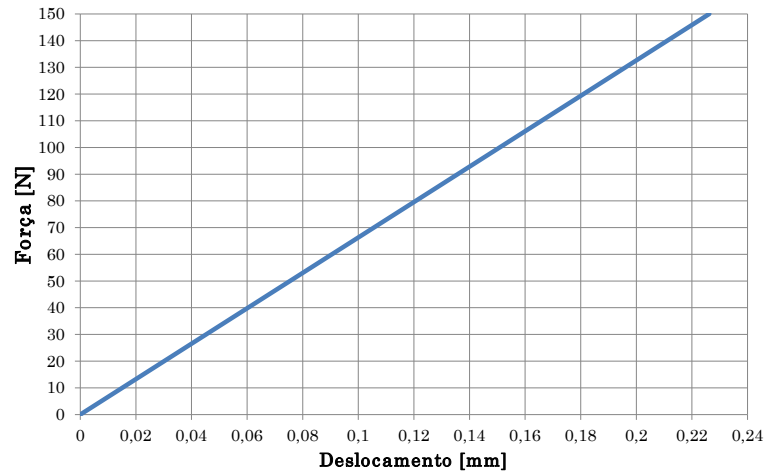


FIGURA 46 – GRÁFICO FORÇA X DESLOCAMENTO PARA A AMOSTRA T1, SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL.

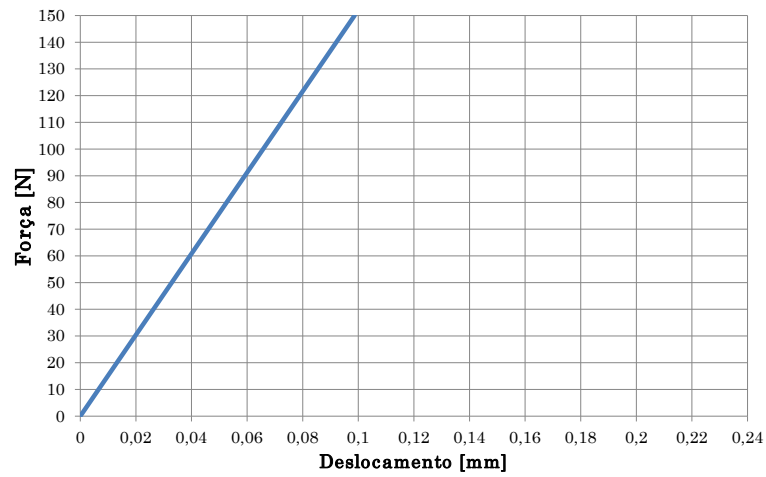


FIGURA 47 – GRÁFICO FORÇA X DESLOCAMENTO PARA A AMOSTRA T2, SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL.

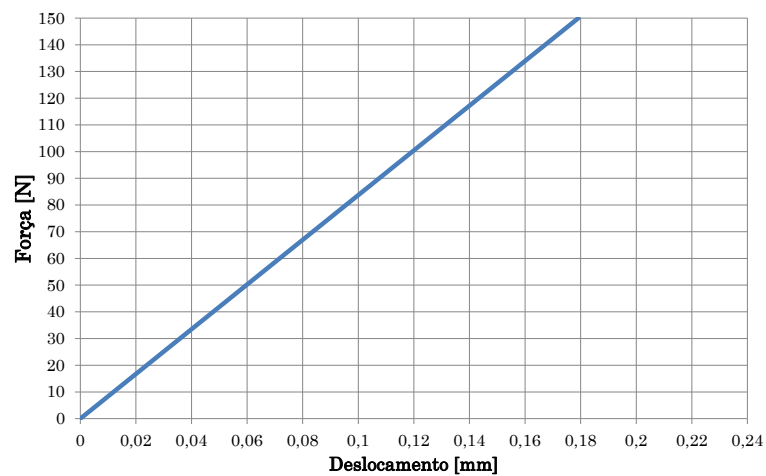


FIGURA 48 – GRÁFICO FORÇA X DESLOCAMENTO PARA A AMOSTRA T3, SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL.

Como se pode observar dos gráficos anteriores, as variáveis presentes no ensaio físico como danificação do material, faturamento, variação não linear, entre foram desconsideradas por se tratar de uma simulação elástica linear do comportamento global da amostra. A complexidade do modelo reside na consideração de diferentes materiais com comportamento anisotrópico em cada elemento.

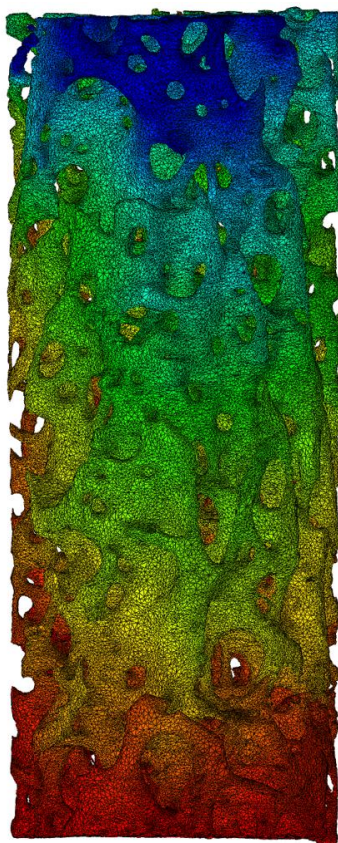


FIGURA 49 – ILUSTRAÇÃO VARIAÇÃO DOS DESLOCAMENTOS NO MODELO COMPUTACIONAL.

Os deslocamentos mensurados no modelo são variáveis entre as trabéculas internas, obtendo-se valores constantes no local de aplicação do carregamento, causados pelo acoplamento dos deslocamentos dos nós. A Figura 49 ilustra uma visualização esquemática da variação dos deslocamentos para a trabécula T1.

### 5.3. COMPARAÇÕES ENTRE ELEMENTOS FINITOS E ENSAIOS MECÂNICOS

Os gráficos comparativos entre os ensaios mecânicos físicos e a simulação computacional dos ensaios mecânicos, através de elementos finitos, para as amostras T1, T2 e T3 são apresentados na Figura 50, Figura 51 e Figura 52, respectivamente. Devido ao tamanho e a complexidade da simulação computacional, as comparações se restringem ao regime elástico linear.

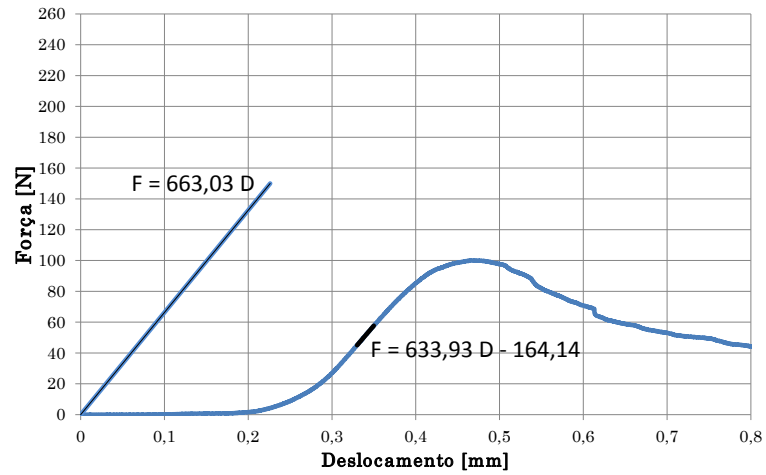


FIGURA 50 – GRÁFICO COMPARATIVO FORÇA X DESLOCAMENTO PARA A AMOSTRA T1.

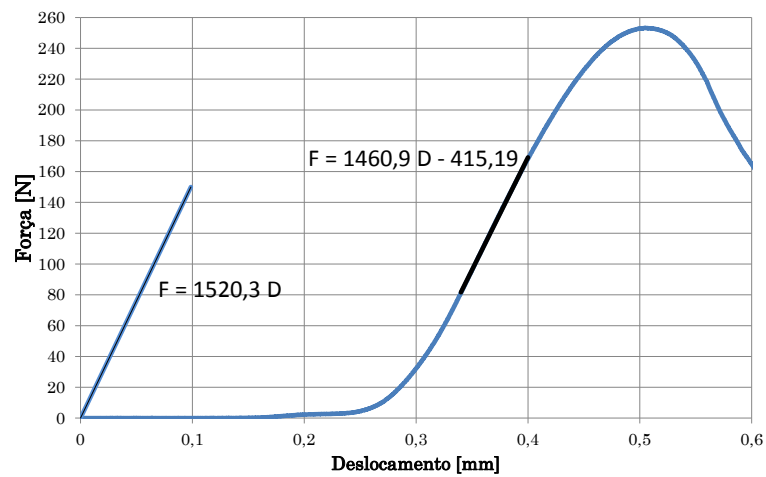


FIGURA 51 – GRÁFICO COMPARATIVO FORÇA X DESLOCAMENTO PARA A AMOSTRA T2.

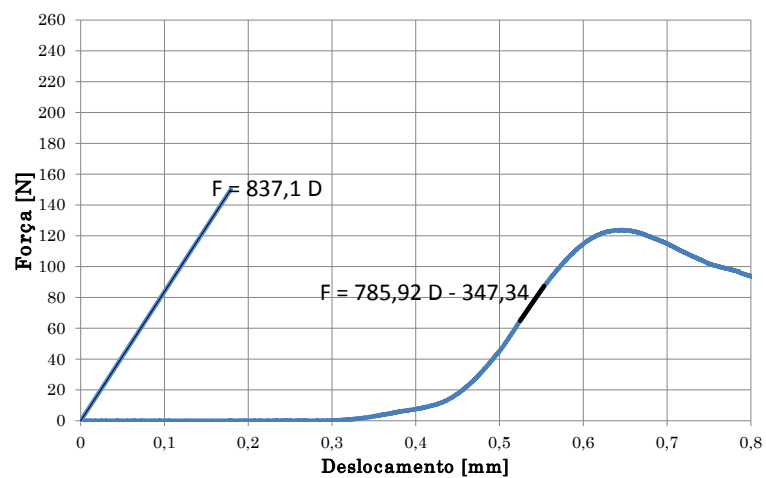


FIGURA 52 – GRÁFICO COMPARATIVO FORÇA X DESLOCAMENTO PARA A AMOSTRA T3.

Nesses gráficos são plotadas as curvas do ensaio físico de compressão das amostras juntamente com a reta obtida, com a relação da força aplicada nos modelos computacionais, 150 N no geral (o valor aplicado nos nós é uma divisão desse valor pelo número de nós onde será aplicado o carregamento), e o seu respectivo deslocamento obtido. Isso é forçado a ocorrer através de uma imposição inicial para simular corretamente o ensaio físico. As retas da simulação computacional são extrapoladas para melhor visualização.

As equações que são mostradas nos gráficos ilustram uma linha de tendência traçada para a reta linear computacional e para a tangente aproximada ao ponto médio do regime elástico dos ensaios físicos, onde F indica a força e D o deslocamento.

Como se pode observar, existe uma diferença entre a inclinação para a tangência no ponto médio do regime elástico do ensaio físico e a reta do ensaio computacional. De acordo com a equação ( 36 ) é possível calcular o módulo de elasticidade em função das inclinações dessas linhas de tendência.

Com o valor das áreas de aplicação das forças, através da equação ( 36 ), é possível calcular os módulos de elasticidade para a simulação computacional e para os ensaios físicos. A Tabela 8 mostra um comparativo entre os módulos de elasticidade calculados para os ensaios físicos e para o modelo computacional.

Módulo de elasticidade modelo computacional [N/mm <sup>2</sup> ]	Módulo de elasticidade ensaio físico [N/mm <sup>2</sup> ]	Erro relativo ao ensaio físico [%]
439	440	+ 4,59
1007	967	+ 4,07
554	520	+ 6,51

TABELA 8 – TABELA COMPARATIVA DOS MÓDULOS DE ELASTICIDADE DO ENSAIO FÍSICO E DO MODELO COMPUTACIONAL.

Esses resultados são discutidos a seguir.

## 6. DISCUSSÃO

O tecido ósseo é um material complexo em sua geometria, propriedades mecânicas, características físicas e biológicas. A complexidade do tema justifica os inúmeros trabalhos onde o sujeito principal é o tecido ósseo, tanto cortical quanto trabecular, e as características levantadas, como por exemplo, propriedades mecânicas, são discrepantes e quase nunca padronizam ou definem um comportamento genérico.

E de fato sua caracterização mecânica é uma missão praticamente impossível, quando adotada uma abordagem demasiadamente simplificada, pois as propriedades de um osso são função de inúmeras variáveis biológicas, como quantidade de certos hormônios, de variáveis biomecânicas, como quantidade de exercício físico que o indivíduo se submete, de variáveis físicas, como densidade óssea, sendo diferentes em cada indivíduo e a cada instante no tempo, por ser um tecido vivo que sofre constante danificação e recuperação (remodelamento ósseo) a ponto do ser humano trocar todo o esqueleto em aproximadamente oito anos (BEHARI, 2009).

O tratamento mecânico do tecido ósseo como um compósito constituído por uma estrutura hierárquica multiescalar na qual, a cada nível todas as estruturas que compõe o material trabalham juntas para produzir as propriedades globais dos ossos (mecânica, química, entre outras), é atualmente a abordagem mais aceita e com resultados mais coerentes. Essa afirmativa pode ser feita baseando-se nas últimas publicações sobre o comportamento mecânico do tecido ósseo (HACKL, ILIC *et al.*, 2010; HAMBLI, 2010; HAMED, LEE *et al.*, 2010; ILIC, HACKL *et al.*, 2010; LEVENGOOD, POLAK *et al.*, 2010; COELHO, FERNANDES *et al.*, 2011; HAMBLI, 2011; HAMBLI, KATERCHI *et al.*, 2011; PODSHIVALOV, FISCHER *et al.*, 2011).

No entanto, apenas a consideração do tecido ósseo como um material hierárquico e multiescalar não garante a caracterização genérica do material, pelo fato de sofrer alta variação em suas propriedades. A forma proposta neste trabalho para uma maior aproximação das reais e corretas propriedades mecânicas de certa amostra de osso específica, podendo ser generalizada e aplicada em qualquer amostra de osso, é mensurar as quantidades dos constituintes desse osso em certo nível escalar, no caso a microescala, e utilizá-las na formulação dos tensores de rigidez, representantes das propriedades mecânicas, para cada volume representativo onde seja possível identificar uma variação dessas propriedades mecânicas, no caso os voxels.

São muitas as dificuldades em se implementar um modelo com essas características propostas, começando pela complexidade do procedimento matemático de homogeneização na multiescala e chegando ao gigantismo do modelo computacional para representar uma simples amostra de 5 mm de diâmetro por 13 mm de altura. A justificativa para tal modelo reside na possibilidade de

implementação computacional de grandes modelos fornecida pelos computadores de última geração disponíveis nesses anos de 2010 e 2011 no mercado para consumidores comuns, e de linguagens de programação de altíssimo nível, como o python.

Um modelo com tal nível de complexidade pode fornecer muito mais que uma simples comparação com ensaios mecânicos de compressão. Sua evolução, implementação do dano, fratura, entre outras teorias mecânicas não lineares, pode levar a um entendimento mais completo de seus comportamentos aprimorando o processo de simulação computacional dessas estruturas.

A danificação do material fica visível ao se observar a curva força por deslocamento dos ensaios de compressão físicos. Por exemplo, a curva para a amostra T1, replicada na Figura 53, logo abaixo, mostra o início da danificação logo após o regime elástico linear, seguido de uma grande perda de rigidez.

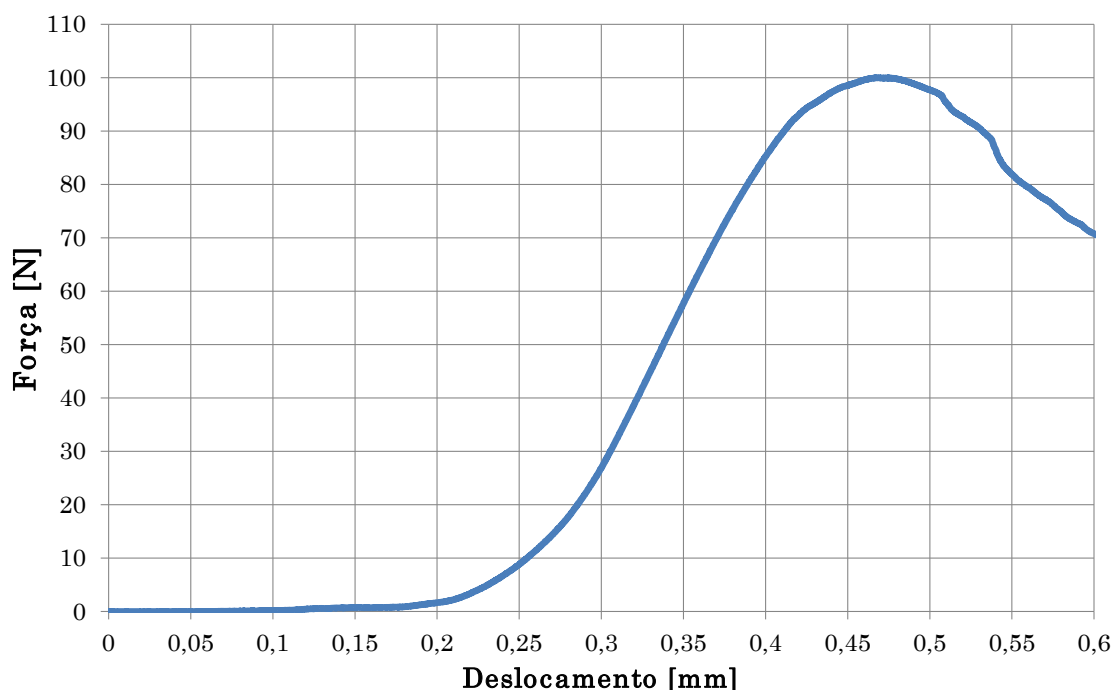


FIGURA 53 – CURVA DE FORÇA X DESLOCAMENTO OBTIDA COM O ENSAIO FÍSICO DE COMPRESSÃO DA AMOSTRA T1.

A o ganho inicial de rigidez pode ser entendido como a falha (e até a quebra) das trabéculas em contato com a superfície do estágio de carga por causa da pequena área de contato, da ordem de 10 a 15 % da área total da seção transversal das amostras. Essa quebra ocorre até o ponto em que o empacotamento dessas trabéculas fraturadas gere uma área de contato suficiente para que a amostra seja solicitada globalmente e a estrutura como um todo comece a trabalhar mecanicamente. Mesmo assim, nota-se que o regime elástico não é tão linear quanto deve ser pela definição teórica. Existe um pequeno dano ocorrendo junto com esse regime. Esse dano pode ser um resíduo de falha e quebra contínua das estruturas que entraram em colapso inicialmente, ou ser representativo da falha de

pequenas estruturas trabeculares dispostas em posições desfavoráveis em relação à concentração de tensões elevando-se o seu nível de tensão rapidamente e logo chegando ao colapso. A ruptura global da amostra não significa o final da resistência mecânica da mesma.

Após a ruptura global, uma reaplicação da carga consegue ilustrar a quebra das estruturas trabeculares em sequencia, conforme ilustra a Figura 54.

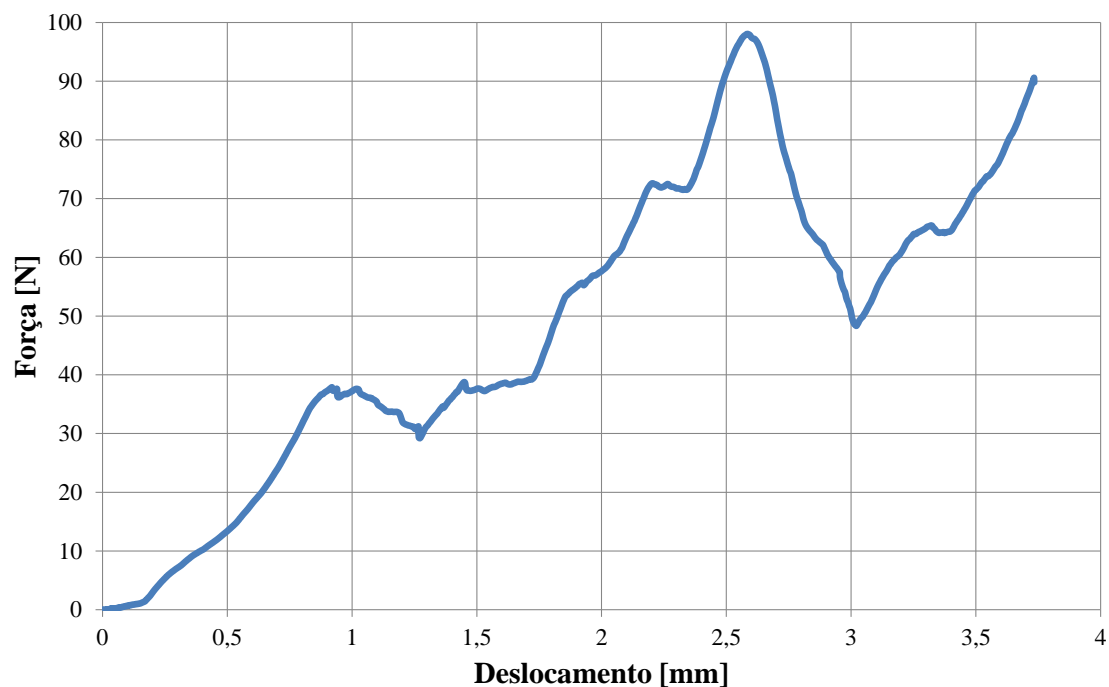


FIGURA 54 – REAPLICAÇÃO DO CARREGAMENTO PARA VISUALIZAÇÃO DAS RUPTURAS LOCAIS.

Na Figura 54 ficam claros os pontos de quebra e falha localizada na estrutura, seguidas de pontos de ganho de rigidez, provavelmente causados por uma redistribuição tridimensional de esforços pela estrutura, incrementando o estado de tensões e fazendo com que outros pontos entrem em ruptura e assim por diante.

Esses gráficos ilustram de uma forma bem clara a complexidade estrutural do tecido ósseo, o que se reflete em uma complexidade maior ainda em se dominar por completo seu comportamento estrutural a ponto de atingir a excelência em uma simulação computacional.

No entanto, conforme comentado na parte introdutória deste trabalho, algumas variáveis que compõe o comportamento de estruturas ósseas podem ser selecionadas de acordo com certo propósito, e serem avaliadas de um ponto de vista coerente em relação ao real comportamento da estrutura para satisfazer o propósito objetivado. Por exemplo, avaliação mecânica de estruturas ósseas trabeculares para aperfeiçoar e melhorar o processo cirúrgico de prótese total de joelho.

Com relação aos resultados obtidos com a metodologia proposta neste trabalho, observam-se discrepâncias nos resultados computacionais relativamente aos resultados físicos da ordem de aproximadamente 4 %, para as amostras 1 e 2 e 6 % para a amostra 3. Esse erro pode ser resultado de diversas variáveis empregadas no desenvolvimento da metodologia. Pode ser consequência da aplicação da teoria de homogeneização de Voigt, classicamente conhecida na literatura por superestimar valores de rigidez para compósitos (HAMED, LEE *et al.*, 2010), ou, da ocorrência da danificação e falha de estruturas anteriormente ao regime linear provocando um comportamento global distinto do comportamento calculado na modelagem computacional.

Além disso, a própria metodologia pode precisar de alguns ajustes. A aplicação do conceito de caracterização dos constituintes no nível microescalar pode ser levada a diante para os níveis subsequentes, para a caracterização completa dos níveis hierárquicos, chegando ao nível molecular, onde as propriedades dos constituintes podem ser mais facilmente padronizadas.

Outro fator a se considerar é embeber as extremidades da amostra de osso em uma resina ou material similar para garantir uma área de transferência de carga que não inicie com uma prematura danificação de partes da extremidade estrutura, durante o ensaio físico de compressão da amostra, viabilizando, inclusive, um ensaio de tração. Essa abordagem requer que a superfície de contato entre a resina e o osso seja calculada assim como as propriedades mecânicas da resina conhecidas.

Por fim, a principal consideração sobre a metodologia proposta é o fato de que ela consegue caracterizar estruturas trabeculares ósseas específicas, fato ilustrado pela variação nos gráficos força por deslocamento das simulações computacionais para cada amostra, em função de parâmetros obtidos com uma microtomografia, uma técnica não invasiva, que, de acordo com certos parâmetros especiais, poderia ser aplicado *in vivo*, e então, alimentar modelos e simulações computacionais que analisem essas complexas estruturas do ponto de vista da engenharia estrutural.

## 7. CONCLUSÕES

A metodologia apresentada neste trabalho para a simulação computacional do tecido ósseo trabecular mostrou-se aproximadamente compatível com os resultados dos ensaios físicos. Isso significa que de certa forma, a metodologia pode ser aplicada na previsão de tensões e deformações em estruturas trabeculares ósseas submetidas a diversas situações de carregamento, pois caracteriza em microescala o material e sua geometria é explicitamente modelada.

Os casos nos quais a metodologia se aplica são aqueles onde não existe qualquer dano na estrutura trabecular e onde é apenas necessário obter-se uma ideia do comportamento da estrutura no regime elástico linear, sendo o mesmo suficiente como resultado.

Apesar das limitações, a metodologia provou-se eficiente em caracterizar estruturas ósseas específicas, obtendo propriedades mecânicas globais semelhantes às determinadas através dos ensaios mecânicos físicos para cada amostra de osso trabecular humano.

Sendo assim, estudos em locais específicos no tecido ósseo trabecular de determinado indivíduo, com certas características, função do instante em que suas funções de regeneração e reabsorção cessaram, que exijam o conhecimento da resposta em relação a tensões e deformações no regime elástico, podem se valer da metodologia proposta para a sua obtenção.

## 8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Definição e implementação de um modelo de dano em microescala para o tecido ósseo trabecular;
- Definição de uma metodologia para a mensuração de todas as frações volumétricas envolvidas no processo de homogeneização e multiescala específicas para as amostras analisadas;
- Determinação das propriedades mecânicas da hidroxiapatita, colágeno e demais componentes elementares do tecido ósseo, para o total controle e conhecimento do material, por meio experimental ou por simulações moleculares dinâmicas, também alimentadas por parâmetros específicos das amostras;
- Evolução do procedimento experimental de amostras de osso humano, para a obtenção de curvas físicas dos demais esforços existentes na estrutura do material, como tração, torção, cisalhamento, entre outros, além de minimizar as variáveis desconsideráveis presentes, como o caso da danificação inicial, obtendo-se resultados mais limpos e claros;
- Análise visual com maior resolução da geometria trabecular através de métodos como nanotomografia;
- Aplicação da técnica da nanoindentação para a avaliação e verificação do processo de homogeneização em outro nível hierárquico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOUBIZA, B.; CROLET, J. M.; MEUNIER, A. On the mechanical characterization of compact bone structure using the homogenization theory. **Journal of Biomechanics**, v. 29, n. 12, p. 1539-1547, 1996. 0021-9290.

ARIFIN, A. Z.; ASANO, A. Image segmentation by histogram thresholding using hierarchical cluster analysis. **Pattern Recognition Letters**, v. 27, n. 13, p. 1515-1521, 2006. 0167-8655.

ASTM C1424. **Standard Test Method for Monotonic Compressive Strength of Advanced Ceramics at Ambient Temperature**, ASTM INTERNATIONAL, West Conshohocken, PA, 1999, doi: 10.1520/C1424-10

ASTM C1273 - 95a. **Standard Test Method for Tensile Strength of Monolithic Advanced Ceramics at Ambient Temperatures**, ASTM INTERNATIONAL, West Conshohocken, PA, 2000, doi: 10.1520/C1273-05R10.

AUGAT, P. et al. Anisotropy of the elastic modulus of trabecular bone specimens from different anatomical locations. **Medical Engineering & Physics**, v. 20, n. 2, p. 124-31, Mar 1998. 1350-4533 (Print).

BECKMANN, E. C. CT scanning the early days. **British Journal of Radiology**, v. 79, n. 937, p. 5-8, 2006. 0007-1285.

BEHARI, J., Ed.^Eds. **Biophysical bone behavior**. Singapore: John Wiley & Sons (Asia), p. 501, ed. 2009.

BELYTSCHKO, T.; FISH, J. **A First Course in Finite Elements**. John Wiley & Sons, Ltd, 2007. 313-319, 9780470510858.

BENVENISTE, Y. A new approach to the application of Mori-Tanaka's theory in composite materials. **Mechanics of Materials**, v. 6, n. 2, p. 147-157, 1987. 0167-6636.

BILEZIKIAN, J. P.; RAISZ, L. G.; RODAN, G. A. **Principles of bone biology**. San Diego ; London: Academic Press, 1996. xx,1398p.,[16]p. of plates, 0120986507 : 115.00.

BUEHLER, M. J. Nature designs tough collagen: Explaining the nanostructure of collagen fibrils. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 33, p. 12285-12290, 2006. 0027-8424, 1091-6490.

CAULEY, J. A. et al. Correlates of Trabecular and Cortical Volumetric Bone Mineral Density at the Femoral Neck and Lumbar Spine: The Osteoporotic Fractures in Men Study (MrOS). **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 25, n. 9, p. 1958-1971, Sep 2010. 0884-0431.

CHEVALIER, Y. et al. Validation of a voxel-based FE method for prediction of the uniaxial apparent modulus of human trabecular bone using macroscopic mechanical tests and nanoindentation. **Journal of Biomechanics**, v. 40, n. 15, p. 3333-3340, 2007. 0021-9290.

COELHO, P. G.; FERNANDES, P. R.; RODRIGUES, H. C. Multiscale modeling of bone tissue with surface and permeability control. **Journal of Biomechanics**, v. 44, n. 2, p. 321-329, Jan 11 2011. 0021-9290.

COMPSTON, J. E. et al. Structural mechanisms of trabecular bone loss in man. **Bone and Mineral**, v. 6, n. 3, p. 339-350, 1989. 0169-6009.

CORY, E. et al. Compressive axial mechanical properties of rat bone as functions of bone volume fraction, apparent density and micro-ct based mineral density. **Journal of Biomechanics**, v. 43, n. 5, p. 953-960, Mar 22 2010. 0021-9290.

CUPPONE, M. et al. The longitudinal Young's modulus of cortical bone in the midshaft of human femur and its correlation with CT scanning data. **Calcif Tissue Int**, v. 74, n. 3, p. 302-9, Mar 2004. 0171-967X (Print).

CURREY, J. Incompatible mechanical properties in compact bone. **Journal of Theoretical Biology**, v. 231, n. 4, p. 569-80, Dec 21 2004. 0022-5193 (Print).

CUSACK, S.; MILLER, A. Determination of the elastic constants of collagen by Brillouin light scattering. **J Mol Biol**, v. 135, n. 1, p. 39-51, Nov 25 1979. 0022-2836 (Print).

DAVIS, G. Explicit control of image noise and error properties in cone-beam microtomography using dual concentric circular source loci. **Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section a-Accelerators Spectrometers Detectors and Associated Equipment**, v. 547, n. 2-3, p. 679-685, Aug 1 2005. 0168-9002.

DE PAIVA, R. F. et al. A beam hardening correction for X-ray microtomography. **Ndt & E International**, v. 31, n. 1, p. 17-22, Feb 1998. 0963-8695.

DESRUMAUX, F.; MERAGHNI, F.; BENZEGGAGH, M. L. Generalised Mori-Tanaka scheme to model anisotropic damage using numerical Eshelby tensor. **Journal of Composite Materials**, v. 35, n. 7, p. 603-624, 2001. 0021-9983.

DUBEY, D. K.; TOMAR, V. Role of the nanoscale interfacial arrangement in mechanical strength of tropocollagen-hydroxyapatite-based hard biomaterials. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 7, p. 2704-2716, Sep 2009. 1742-7061.

DUBEY, D. K.; TOMAR, V. Tensile and Compressive Loading Effects on Texture Dependent Nanoscale Mechanical Behavior of Model Tropocollagen-Hydroxyapatite Biomaterials. **Journal of Computational and Theoretical Nanoscience**, v. 7, n. p. 1306-1316, 2010.

DYSON, N. A. **Radiation Physics With Applications in Medicine and Biology**. Second Edition. London, UK: Ellis Horwood Ltd, 1993. 300p., 0137511167.

ESHELBY, J. D. The Determination of the Elastic Field of an Ellipsoidal Inclusion, and Related Problems. **Proceedings of the Royal Society of London Series a-Mathematical and Physical Sciences**, v. 241, n. 1226, p. 376-396, 1957.

FELDKAMP, L. A.; DAVIS, L. C.; KRESS, J. W. Practical cone-beam algorithm. **Journal of the Optical Society of America A: Optics, Image Science, and Vision**, v. 1, n. 6, p. 612-619, June, 06 1984.

FIELD, R. E.; KENYON, C. M. A mathematical analysis for the modelling of trabecular bone. **Journal of Biomedical Engineering**, v. 11, n. 5, p. 384-389, 1989. 0141-5425.

FILLER, A. The History, Development and Impact of Computed Imaging in Neurological Diagnosis and Neurosurgery: CT, MRI, and DTI. **Nature Precedings**, v. n. p. 2009. 1756-0357.

FRASER, R. D. B.; MACRAE, T. P.; SUZUKI, E. Chain conformation in the collagen molecule. **Journal of Molecular Biology**, v. 129, n. 3, p. 463-481, 1979. 0022-2836.

FRITSCH, A.; HELLMICH, C. 'Universal' microstructural patterns in cortical and trabecular, extracellular and extravascular bone materials: Micromechanics-based prediction of anisotropic elasticity. **Journal of Theoretical Biology**, v. 244, n. 4, p. 597-620, Feb 21 2007. 0022-5193.

FYHRIE, D. P.; KIMURA, J. H. Cancellous bone biomechanics. **Journal of Biomechanics**, v. 32, n. 11, p. 1139-1148, 1999. 0021-9290.

GHANBARI, J.; NAGHDABADI, R. Nonlinear hierarchical multiscale modeling of cortical bone considering its nanoscale microstructure. **Journal of Biomechanics**, v. 42, n. 10, p. 1560-1565, Jul 22 2009. 0021-9290.

GIESEN, E. B. W. et al. Mechanical properties of cancellous bone in the human mandibular condyle are anisotropic. **Journal of Biomechanics**, v. 34, n. 6, p. 799-803, Jun 2001. 0021-9290.

GREENBERG, M. D. **Advanced engineering mathematics**. 2nd. Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall, 1998. xix, 1324 p., 0133214311.

GUO, X. E.; KIM, C. H. Mechanical consequence of trabecular bone loss and its treatment: a three-dimensional model simulation. **Bone**, v. 30, n. 2, p. 404-411, 2002. 8756-3282.

HACKL, K.; ILIC, S.; GILBERT, R. Multiscale modeling for cancellous bone by using shell elements. **Shell Structures: Theory and Applications, Vol 2**, v. n. p. 249-252, 2010.

HAGE, W. D.; ABOULAFIA, A. J.; ABOULAFIA, D. M. INCIDENCE, LOCATION, AND DIAGNOSTIC EVALUATION OF METASTATIC BONE DISEASE. **Orthopedic Clinics of North America**, v. 31, n. 4, p. 515-528, 2000. 0030-5898.

HAMBLLI, R. Application of Neural Networks and Finite Element Computation for Multiscale Simulation of Bone Remodeling. **Journal of Biomechanical Engineering-Transactions of the Asme**, v. 132, n. 11, p. -, Nov 2010. 0148-0731.

HAMBLLI, R. Multiscale prediction of crack density and crack length accumulation in trabecular bone based on neural networks and finite element simulation. **International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering**, v. 27, n. 4, p. 461-475, Apr 2011. 2040-7939.

HAMBLLI, R.; KATERCHI, H.; BENHAMOU, C. L. Multiscale methodology for bone remodelling simulation using coupled finite element and neural network computation. **Biomechanics and Modeling in Mechanobiology**, v. 10, n. 1, p. 133-145, Feb 2011. 1617-7959.

HAMED, E.; LEE, Y.; JASIUK, I. Multiscale modeling of elastic properties of cortical bone. **Acta Mechanica**, v. 213, n. 1-2, p. 131-154, Aug 2010. 0001-5970.

HELGASON, B. et al. Mathematical relationships between bone density and mechanical properties: A literature review. **Clinical Biomechanics**, v. 23, n. 2, p. 135-146, Feb 2008. 0268-0033.

HELLMICH, C.; ULM, F.-J.; DORMIEUX, L. Can the diverse elastic properties of trabecular and cortical bone be attributed to only a few tissue-independent phase properties and their interactions? **Biomechanics and Modeling in Mechanobiology**, v. 2, n. 4, p. 219-238, 2004. 1617-7959.

HERMAN, G. T.; SINGH, S.; SPRINGERLINK (ONLINE SERVICE). **Fundamentals of Computerized Tomography Image Reconstruction from Projections**. Advances in Pattern Recognition. London: Springer London. p. 2009.

HILL, R. Elastic properties of reinforced solids: Some theoretical principles. **Journal of the Mechanics and Physics of Solids**, v. 11, n. 5, p. 357-372, 1963. 0022-5096.

HOLLISTER, S. J.; BRENNAN, J. M.; KIKUCHI, N. A homogenization sampling procedure for calculating trabecular bone effective stiffness and tissue level stress. **Journal of Biomechanics**, v. 27, n. 4, p. 433-444, 1994. 0021-9290.

ILIC, S.; HACKL, K.; GILBERT, R. Application of the multiscale FEM to the modeling of cancellous bone. **Biomechanics and Modeling in Mechanobiology**, v. 9, n. 1, p. 87-102, Feb 2010. 1617-7959.

JASIUK, I.; OSTOJA-STARZEWSKI, M. Modeling of bone at a single lamella level. **Biomechanics and Modeling in Mechanobiology**, v. 3, n. 2, p. 67-74, Nov 2004. 1617-7959.

JOHNS, H. E.; CUNNINGHAM, J. R. **The physics of radiology**. 4th ed. Springfield, Ill.: Charles C. Thomas, 1983. xix, 796 p., 0398046697.

KANEKO, T. S. et al. Relationships between material properties and CT scan data of cortical bone with and without metastatic lesions. **Medical Engineering & Physics**, v. 25, n. 6, p. 445-454, Jul 2003. 1350-4533.

KATZ, J. L.; UKRAINCIIK, K. On the anisotropic elastic properties of hydroxyapatite. **Journal of Biomechanics**, v. 4, n. 3, p. 221-7, May 1971. 0021-9290 (Print).

KLUSEMANN, B.; SVENDSEN, B. Homogenization methods for multi-phase elastic composites: Comparisons and Benchmarks. **Technische Mechanik**, v. n. 4, p. 374 - 386, 2010.

KREIN, M.; SMULIAN, V. On Regularly Convex Sets in the Space Conjugate to a Banach Space. **The Annals of Mathematics**, v. 41, n. 3, p. 556, 1940. 0003486X.

KYRIAKOU, Y.; PRELL, D.; KALENDER, W. A. Ring artifact correction for high-resolution micro CT. **Physics in Medicine and Biology**, v. 54, n. 17, p. N385-91, Sep 7 2009. 0031-9155 (Print).

LAI, W. M.; RUBIN, D.; KREMPL, E. **Introduction to continuum mechanics**. 4th. Amsterdam ; Boston: Butterworth-Heinemann/Elsevier, 2010. xiv, 520 p., 9780750685603 (hardcover), 0750685603 (hardcover).

LEAHY, P. D. et al. Correlation of mechanical properties within the equine third metacarpal with trabecular bending and multi-density micro-computed tomography data. **Bone**, v. 46, n. 4, p. 1108-1113, Apr 2010. 8756-3282.

LEVENGOOD, S. K. L. et al. Multiscale osteointegration as a new paradigm for the design of calcium phosphate scaffolds for bone regeneration. **Biomaterials**, v. 31, n. 13, p. 3552-3563, May 2010. 0142-9612.

LI, J. N. Y.; DUNN, M. L. Anisotropic coupled-field inclusion and inhomogeneity problems. **Philosophical Magazine a-Physics of Condensed Matter Structure Defects and Mechanical Properties**, v. 77, n. 5, p. 1341-1350, May 1998. 0141-8610.

LI, L. et al. A cone-beam tomography system with a reduced size planar detector: A backprojection-filtration reconstruction algorithm as well as numerical and practical experiments. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 65, n. 9, p. 1041-1047, Sep 2007. 0969-8043.

MA, Q. Y.; LOGAN, T. J.; TRAINA, S. J. Lead Immobilization from Aqueous Solutions and Contaminated Soils Using Phosphate Rocks. **Environmental Science & Technology**, v. 29, n. 4, p. 1118-1126, 1995. 0013-936X.

MAH, P.; REEVES, T. E.; MCDAVID, W. D. Deriving Hounsfield units using grey levels in cone beam computed tomography. **Dentomaxillofac Radiol**, v. 39, n. 6, p. 323-35, Sep 2010. 0250-832X (Print).

MERCIER, S.; MOLINARI, A. Homogenization of elastic-viscoplastic heterogeneous materials: Self-consistent and Mori-Tanaka schemes. **International Journal of Plasticity**, v. 25, n. 6, p. 1024-1048, 2009. 0749-6419.

MITTRA, E. et al. Evaluation of trabecular mechanical and microstructural properties in human calcaneal bone of advanced age using mechanical testing,  $\mu$ CT, and DXA. **Journal of Biomechanics**, v. 41, n. 2, p. 368-375, 2008. 0021-9290.

MITTRA, E.; RUBIN, C.; QIN, Y. X. Interrelationship of trabecular mechanical and microstructural properties in sheep trabecular bone. **Journal of Biomechanics**, v. 38, n. 6, p. 1229-1237, Jun 2005. 0021-9290.

MORI, T.; TANAKA, K. Average Stress in Matrix and Average Elastic Energy of Materials with Misfitting Inclusions. **Acta Metallurgica**, v. 21, n. 5, p. 571-574, 1973. 0001-6160.

MURA, T. **Micromechanics of defects in solids**. 2nd, rev. ed. Dordrecht Boston London: Kluwer Academic publ., 1993. XIII-587, 902473343X, 9024732565 br.

NIKOLOV, S.; RAABE, D. Hierarchical modeling of the elastic properties of bone at submicron scales: The role of extrafibrillar mineralization. **Biophysical Journal**, v. 94, n. 11, p. 4220-4232, Jun 1 2008. 0006-3495.

NOBELPRIZE.ORG. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1979. p. 18 Apr 2011, 1979.

NORMAN, J. et al. Micromechanical properties of human trabecular bone: a hierarchical investigation using nanoindentation. **J Biomed Mater Res A**, v. 87, n. 1, p. 196-202, Oct 2008. 1552-4965 (Electronic), 1549-3296 (Linking).

OHMAN, C. et al. Mechanical testing of cancellous bone from the femoral head: Experimental errors due to off-axis measurements. **Journal of Biomechanics**, v. 40, n. 11, p. 2426-2433, 2007. 0021-9290.

OLSZTA, M. J. et al. Bone structure and formation: A new perspective. **Materials Science & Engineering R-Reports**, v. 58, n. 3-5, p. 77-116, Nov 28 2007. 0927-796X.

ORGEL, J. P. et al. Microfibrillar structure of type I collagen in situ. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 24, p. 9001-5, Jun 13 2006. 0027-8424 (Print).

PETERSON, D. R.; BRONZINO, J. D. **Biomechanics : principles and applications**. Boca Raton, Fla. ; London: CRC; Taylor & Francis [distributor], 2008. 9780849385346 (cased), 0849385342 (cased).

PODSHIVALOV, L.; FISCHER, A.; BAR-YOSEPH, P. Z. 3D hierarchical geometric modeling and multiscale FE analysis as a base for individualized medical diagnosis of bone structure. **Bone**, v. 48, n. 4, p. 693-703, Apr 1 2011. 8756-3282.

PORTER, D. Pragmatic multiscale modelling of bone as a natural hybrid nanocomposite. **Materials Science and Engineering a-Structural Materials Properties Microstructure and Processing**, v. 365, n. 1-2, p. 38-45, Jan 25 2004. 0921-5093.

PREPARATA, F. P.; HONG, S. J. Convex hulls of finite sets of points in two and three dimensions. **Commun. ACM**, v. 20, n. 2, p. 87-93, 1977. 0001-0782.

PYTHON, C. Python Programming Language – Official Website. p. Python is a programming language that lets you work more quickly and integrate your systems more effectively. You can learn to use Python and see almost immediate gains in productivity and lower maintenance costs., 2011.

RHO, J. Y.; HOBATHO, M. C.; ASHMAN, R. B. Relations of Mechanical-Properties to Density and Ct Numbers in Human Bone. **Medical Engineering & Physics**, v. 17, n. 5, p. 347-355, Jul 1995. 1350-4533.

RHO, J. Y.; KUHN-SPEARING, L.; ZIOUPOS, P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. **Medical Engineering & Physics**, v. 20, n. 2, p. 92-102, Mar 1998. 1350-4533.

RUSS, J. C. **The image processing handbook**. 5rd. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2007. 771 s., 0849372542.

SABER-SAMANDARI, S.; GROSS, K. A. Micromechanical properties of single crystal hydroxyapatite by nanoindentation. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 6, p. 2206-2212, 2009. 1742-7061.

SANSALONE, V.; LEMAIRE, T.; NAILI, S. Multiscale modelling of mechanical properties of bone: study at the fibrillar scale. **Comptes Rendus Mecanique**, v. 335, n. 8, p. 436-442, Aug 2007. 1631-0721.

TABOR, Z.; ROKITA, E. Quantifying anisotropy of trabecular bone from gray-level images. **Bone**, v. 40, n. 4, p. 966-972, Apr 2007. 8756-3282.

TEO, J. C. M. et al. Relationship between CT intensity, micro-architecture and mechanical properties of porcine vertebral cancellous bone. **Clinical Biomechanics**, v. 21, n. 3, p. 235-244, Mar 2006. 0268-0033.

TERADA, K. et al. Simulation of the multi-scale convergence in computational homogenization approaches. **International Journal of Solids and Structures**, v. 37, n. 16, p. 2285-2311, 2000. 0020-7683.

TERAOKA, K. et al. Mechanical Properties of Hydroxyapatite and OH-carbonated Hydroxyapatite Single Crystals. **Journal of Dental Research**, v. 77, n. 7, p. 1560-1568, July 1, 1998 1998.

TKACHENKO, E. V. et al. Voxel size and measures of individual resorption cavities in three-dimensional images of cancellous bone. **Bone**, v. 45, n. 3, p. 487-492, 2009. 8756-3282.

TREMEAU, A.; BOREL, N. A region growing and merging algorithm to color segmentation. **Pattern Recognition**, v. 30, n. 7, p. 1191-1203, 1997. 0031-3203.

TURNER, C. H.; BURR, D. B. Basic biomechanical measurements of bone: A tutorial. **Bone**, v. 14, n. 4, p. 595-608, 1993. 8756-3282.

UCHIYAMA, T. et al. Three-dimensional microstructural analysis of human trabecular bone in relation to its mechanical properties. **Bone**, v. 25, n. 4, p. 487-491, 1999. 8756-3282.

VARGAS, D. M.; AUDÍ, L.; CARRASCOSA, A. Peptídeos derivados do colágeno: novos marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 4, p. 1997. 0104-4230.

VERHULP, E. et al. Indirect determination of trabecular bone effective tissue failure properties using micro-finite element simulations. **Journal of Biomechanics**, v. 41, n. 7, p. 1479-1485, 2008. 0021-9290.

VISWANATH, B. et al. Mechanical properties and anisotropy in hydroxyapatite single crystals. **Scripta Materialia**, v. 57, n. 4, p. 361-364, Aug 2007. 1359-6462.

WANG, S. J. Mechanical properties of cancellous bone in the human mandibular condyle are anisotropic. **Journal of Biomechanics**, v. 35, n. 4, p. 549-549, Apr 2002. 0021-9290.

WEINER, S.; TRAUB, W. Bone structure: from angstroms to microns. **FASEB J**, v. 6, n. 3, p. 879-85, Feb 1 1992. 0892-6638 (Print).

WOLFRAM, U.; WILKE, H. J.; ZYSSET, P. K. Valid mu finite element models of vertebral trabecular bone can be obtained using tissue properties measured with nanoindentation under wet conditions. **Journal of Biomechanics**, v. 43, n. 9, p. 1731-1737, Jun 18 2010. 0021-9290.

ZAMIRI, A.; DE, S. Mechanical properties of hydroxyapatite single crystals from nanoindentation data. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. In Press, Corrected Proof, n. p. 2010. 1751-6161.

ZANNONI, C.; MANTOVANI, R.; VICECONTI, M. Material properties assignment to finite element models of bone structures: a new method. **Medical Engineering & Physics**, v. 20, n. 10, p. 735-740, Dec 1998. 1350-4533.

ZHENG, Q. S.; DU, D. X. An explicit and universally applicable estimate for the effective properties of multiphase composites which accounts for inclusion distribution. **Journal of the Mechanics and Physics of Solids**, v. 49, n. 11, p. 2765-2788, 2001. 0022-5096.

ZIENKIEWICZ, O. C.; TAYLOR, R. L. **The finite element method for solid and structural mechanics**. 6th. Amsterdam ; Boston: Elsevier Butterworth Heinemann, 2005. xv, 631 p., [4] p. of plates, 9780750663212 (cloth), 0750663219 (cloth).